Zeitschrift für Gärungsphysiologie

allgemeine, landwirtschaftliche und technische Mykologie

unter Mitwirkung von

V. Babes-Bukarest, **Chr. Barthel**-Stockholm, **A. Bau**-Bremen, **M. W. Beijerinck**-Delft, **W. Benecke**-Berlin, **Ph. Biourge**-Löwen, **A. J. Brown**-Birmingham, **M. Bücheler**-Weihenstephan, **R. Burri**-Liebefeld bei Bern, **A. Calmette**-Lille, **R. Chodat**-Genf, **A. Cluss**-Wien, **F. Czapek**-Prag, **M. Düggeli**-Zürich, **J. Effront**-Brüssel, **F. Ehrlich**-Breslau, **H. v. Euler**-Stockholm, **A. Fischer**-Basel, **C. Gorini**-Mailand, **R. Graßberger**-Wien, **A. Harden**-London, **H. A. Harding**-New York, **F. C. Harrison**-Ste. Anne de Bellevue, Canada, **F. v. Höhnel**-Wien, **J. Chr. Holm**-Kopenhagen, **F. Hueppe**-Prag, **G. v. Istvànffi**-Budapest, **Orla Jensen**-Kopenhagen, **Alfred Jörgensen**-Kopenhagen, **V. v. Klecki**-Krakau, **M. Klimmer**-Dresden, **A. Koch**-Göttingen, **R. Kolkwitz**-Steglitz-Berlin, **F. Krasser**-Prag, **W. Kruse**-Bonn, **H. van Laer**-Gent, **F. Löhnis**-Leipzig, **Ch. E. Marshall**-East Lansing, Michigan, **R. Meißner**-Weinsberg, **W. Migula**-Eisenach, **H. Molisch**-Wien, **C. Neuberg**-Berlin, **W. Palladin**-Petersburg, **P. Petit**-Nancy, **P. Pichi**-Conegliano, **E. Prior**-Wien, **O. Richter**-Wien, **E. Roux**-Paris, **K. Saito**-Tokio, **A. Schattenfroh**-Wien, **W. Seifert**-Klosterneuburg, **J. Stoklasa**-Prag, Freiherr **v. Tubeuf**-München, **W. Winkler**-Wien, **J. Wortmann**-Geisenheim, **H. Zikes**-Wien

herausgegeben von

Professor Dr. Alexander Kossowicz-Wien

BAND II

44

BERLIN
Verlag von Gebrüder Borntraeger
W 35 Schöneberger Ufer 12a
1913

Druck von E. Buchbinder (H. Duske) in Neuruppin.

Inhaltsverzeichnis.

Druckfehlerberichtigungen.

Seite 16,	Zeile 34:	statt Körber lies Kröber.
„ 61,	„ 18:	statt Mucoir lies Mucor.
„ 86,	„ 34:	statt Guanidin carbonic. als Stickstoffquelle lies als Kohlenstoffquelle.
„ 106,	„ 21:	statt Areit lies Arbeit.
„ 151,	„ 6:	statt Linderi lies Lindneri.
„ 168,	„ 34:	statt für Aluminium lies von Aluminium.
„ 169,	„ 39:	statt Schneckenbach lies Scheckenbach.
„ 241,	„ 13:	statt Eijman lies Eijkman.
„ 283,	„ 32:	statt Pflanzenpkys. lies Pflanzenphys.

Band II Heft I ~5 Oktober 1912

Zeitschrift für Gärungsphysiologie

allgemeine, landwirtschaftliche und technische Mykologie

unter Mitwirkung von

herausgegeben von

Professor Dr. Alexander Kossowicz-Wien

BERLIN
Verlag von Gebrüder Borntraeger
W 35 Schöneberger Ufer 12a
1912

Inhalt des 1. Heftes

Die „Zeitschrift für Gärungsphysiologie" erscheint in zwanglosen Heften von je ca. 4 Bogen. Je 24 Druckbogen bilden einen Band zum Preise von 20 Mark. Jährlich gelangen $1^1/_2$ bis 2 Bände zur Ausgabe.

Alle die **Redaktion** betreffenden Zuschriften und Sendungen (Manuskripte, Separatabdrücke, Rezensionsexemplare) sind an den Herausgeber **Professor Dr. Alexander Kossowicz, Wien II, Josef-Gall-Gasse 2,** zu richten, alle geschäftlichen Mitteilungen an die **Verlagsbuchhandlung Gebrüder Borntraeger in Berlin W 35, Schöneberger Ufer 12a.**

Originalabhandlungen können auch in **englischer, französischer und italienischer Sprache** zur Veröffentlichung gelangen.

Bereits in anderen Zeitschriften veröffentlichte Originalabhandlungen werden nicht aufgenommen.

Über Silikatzersetzung durch Bodenbakterien.

I. Mitteilung.

Von **Kasimir Bassalik.**

(Aus dem botanischen Institut der Universität Basel. Vorstand: Prof. Dr. A. Fischer.)

I. Über die Tätigkeit der Regenwürmer in Beziehung zu den Bodenbakterien.

1. Mechanische Bodenzerkleinerung durch Regenwürmer.

Die Fruchtbarkeit des Bodens sucht man in neuerer Zeit aus der Intensität aller sich im Boden abspielenden Zersetzungs- und Umwandlungsprozesse zu ermitteln. Einen Maßstab für die Gesamtheit dieser Prozesse bildet insbesondere die Kohlendioxyd-Produktion des Bodens, und, da diese durch Erhitzen oder Antiseptika im Boden aufgehoben wird, müssen diese Vorgänge auf biologische Ursachen zurückgeführt werden, hauptsächlich also auf die Tätigkeit von Mikroorganismen.

Es verdienen sonach alle Faktoren, die die nützliche Entfaltung der Mikroorganismentätigkeit im Boden beeinflussen oder begünstigen, eine gebührende Beachtung; es erschien daher von einigem Interesse, auch die Beziehungen der Regenwürmer zu den Bodenbakterien näher kennen zu lernen, um so mehr, als von älteren Forschern gerade den Regenwürmern eine große Bedeutung wegen ihrer Tätigkeit im Boden zugeschrieben worden ist.

Als erster hat wohl Darwin im Jahre 1837 die Aufmerksamkeit insbesondere der Geologen auf die Regenwürmer zu lenken versucht. 45 Jahre später kam er auf denselben Gegenstand zurück und veröffentlichte sein sehr reiches Beobachtungsmaterial in dem bekannten Werke „Bildung der Ackererde“. Einiges aus diesem Werke, was im Verlaufe unserer Darstellung als besonders belangreich sich erweisen wird, mag hier hervorgehoben werden:

Der äußerst kräftige und durch eine Chitinmembran noch gefestete Muskelmagen dient, da dem Regenwurm Zähne oder Kiefer fehlen, als Kaumagen, worin er, durch Verschlucken von vielen kleinen Steinchen, die wie Mühlsteine wirken, die Nahrung zerkleinert (S. 10—11). Überdies verschluckt er beim Bohren von Gängen und in Ermangelung anderer Nahrung große Mengen Erde, deren organische Bestandteile er als Nahrung verwendet (S. 56—59), wodurch die einzelnen mineralischen Partikel in dem Muskelmagen eine Abreibung erfahren (S. 139—145). Die Menge der durch Regenwürmer ausgeworfenen Erde beträgt nach Darwins sorgfältigen Berechnungen pro Jahr und Hektar ca. 25 Tonnen (S. 95), und die Mächtigkeit der daraus gebildeten Erdschicht 0,3—0,6 cm (S. 96 u. 175).

Victor Hensen weist auf die subtile Durcharbeitung des Bodens durch Regenwürmer, auf die innige Vermischung von Pflanzenresten mit den Mineralbestandteilen des Bodens hin, und gibt Zahlen betr. die Häufigkeit der Regenwürmer. Er fand in Norddeutschland auf 1 ha Gartenland 133000 große Regenwürmer (Lumbricus terrestris), auf Getreideland die Hälfte.

P. E. Müller gibt für Dänemark bedeutend höhere Zahlen an, und zwar 400000 pro ha. Er schätzt besonders die Wühlarbeit der Regenwürmer im Boden und führt die Bildung des Mullbodens, besonders in Buchenwäldern, auf das innige Vermischen der Waldstreu mit dem Erdreich durch die Regenwürmer zurück; nach ihm erreicht der Boden durch keine Bearbeitungsweise eine derartig lockere und krümelige Beschaffenheit, wie sie durch Regenwürmer zustande gebracht wird.

Auch Ramann (S. 125) hält die Arbeit der Regenwürmer für ein wichtiges Hilfsmittel der Bodenlockerung; besonders auf schweren Böden erleichtern sie sehr den Wasserabfluß.

E. Henry (S. 131—132) stellte Beobachtungen über die Menge des von Regenwürmern im Walde verzehrten Laubes an. 5 Regenwürmer verzehrten innerhalb 66 Tagen 6,5 g Blätter (Trockensubstanz), darunter mit Vorliebe Hainbuchenblätter (90 % der verabreichten Blätter, weniger Buchen- und Eichenblätter [30 %]).

Wollny hat experimentell die Tätigkeit der Regenwürmer im Boden untersucht. Er konnte durch die Einwirkung der Regenwürmer eine sehr bedeutende Volumzunahme des Bodens (S. 41), ferner eine außerordentlich große Zunahme der Luftkapazität und eine Verminderung der Wasserkapazität des Bodens (S. 42) feststellen. Ferner, was uns noch besonders beschäftigen wird, beobachtete er in einem mit Regenwürmern bevölkert gewesenen Boden eine bedeutende Erhöhung der

Zersetzungsvorgänge, durch die Intensität der CO_2-Produktion gemessen (S. 40), und als wahrscheinliche Folge hiervon eine gesteigerte Löslichkeit der Mineralstoffe (S. 41).

C. Dusserre (S. 77) wie auch Hohl (S. 450) konnten in den Exkrementen der Regenwürmer insbesondere eine beträchtliche Zunahme an Salpeterstickstoff gegenüber der Kontrollerde nachweisen.

Im Anschluß an die oben zitierten Arbeiten will ich hier einige Versuche mitteilen, die die Versuchsergebnisse der erwähnten Forscher bestätigen und deren einer die Vermutungen Darwins betr. die Zerkleinerung von Gesteinspartikeln durch Regenwürmer zur Gewißheit erhebt.

I. Versuch.

Ein Topf mit einem Durchmesser von 22 cm wurde mit 6450 g sehr bindigem Lehm gefüllt und auf der ca. 380 qcm betragenden Fläche ca. 100 Blätter von Fagus, Carpinus, Alnus, Coryllus, Acer und Quercus im Gesamttrockengewicht von 31,6 g ausgebreitet. In den Topf wurden nun 2 große Regenwürmer eingesetzt, und durch Begießen mit destilliertem Wasser für eine möglichst gleichmäßige Feuchtigkeit gesorgt. Nach Verlauf von 290 Tagen war mit Ausnahme von 7 Eichen- und 2 Buchenblättern neben ziemlich reichlichen Blattstielen und dickeren Nerven alles übrige verzehrt. Die unverzehrten Reste wogen trocken 7,3 g. In dem Zeitraum von 290 Tagen wurden also 24,3 g Trockensubstanz verzehrt, was pro Regenwurm und Monat $1^1/_3$ g ausmacht, also noch mehr wie bei dem Versuch Henrys (S. 132). Daneben wurde eine ca. 0,2 cm mächtige Schicht von Humus auf der Oberfläche abgesetzt, der Lehm durch äußerst zahlreiche Röhren gelockert und an vielen Stellen durch abgesetzte Exkremente dunkel gefärbt. Die Volumzunahme der Lehmmasse betrug 19,2 %.

In drei anderen Versuchen erhielt ich ähnliche Resultate; darunter wurde in zwei Fällen von den Regenwürmern, pro Monat und Regenwurm gerechnet, sogar noch mehr an Blättern verzehrt.

Die bodenlockernde Wirkung der Regenwürmer ist aber weit beträchtlicher, sobald man den Regenwürmern möglichst wenig Nahrung reicht, wie der nächste Versuch zeigt.

II. Versuch.

In einem Topf mit sehr bindigem Lehm im Gewicht von 3630 g und 5 Regenwürmern, denen während 104 Tagen nur 3 kleine zerschnittene Karotten als Nahrung gegeben wurden, war die ganze Erd-

masse völlig durchwühlt; die ganze Lehmmasse schien, ihrem Aussehen nach zu urteilen, durch den Darm der Würmer gegangen zu sein. Die Volumzunahme der Lehmmasse betrug gegenüber einem Kontrolltopf mit reichlicher Beigabe von Blättern und Karotten 31 %. Zwei andere Versuche dieser Art ergaben ähnliche Resultate.

III. Versuch.

Ein Topf wurde mit 4946,2 g trockenem Granitpulver, das vorher sorgfältig in 4 verschiedene Korngrößen gesiebt worden war, gefüllt, mit destilliertem Wasser befeuchtet, in eine Porzellanschale zwecks Abfangens der mit dem Wasser etwa durchsickernden kleinsten Gesteinsteilchen gestellt, darin 15 große Regenwürmer gebracht und bedeckt ins Dunkelzimmer gestellt. Während der Versuchsdauer wurden die Regenwürmer mit Karotten, Zwiebel- und Lindenblättern gefüttert, der Topf von Zeit zu Zeit mit destilliertem Wasser begossen.

Das Eindringen in die dichte Pulvermasse bereitete den Regenwürmern anfänglich große Schwierigkeiten, denn zwei von ihnen lagen am nächsten Tage tot und ein dritter befand sich noch am dritten Tage auf der Oberfläche. Nach 3 Monaten wurden die Regenwürmer, deren sich nur noch 6 vorfanden, herausgenommen, die Blattreste abgesiebt resp. aufgelesen, der Topfinhalt gesiebt und gewogen.

Die untenstehende Tabelle gibt über das Resultat des Versuches Aufschluß:

	Korngröße I 0,42—1,8 mm	Korngröße II 0,19—0,42 mm	Korngröße III 0,1—0,19 mm	Korngröße IV bis 0,1 mm	Summa in g
Gegeben in g .	2259,7	1511,6	829,7	345,2	4946,2
Wiedergefunden in g . . .	2192,8	1514,7	871,8	384,8	4964,1
Zu- oder Abnahme in g .	— 66,9	+ 3,1	+ 42,1	+ 39,6	+ 17,9
Zu- oder Abnahme in % .	— 3 %	+ 0,2 %	+ 5,2 %	+ 11,4 %	+ 0,36 %

Die geringe Zunahme des gesamten Pulvers, wie sie die Tabelle zeigt, stammt neben den unvermeidlichen Wägefehlern aus der Trockensubstanz der verzehrten Nahrung und aus jener der abgestorbenen 7 Regenwürmer und deren Darminhalt beim Einbringen der Würmer in den Topf, wiewohl die Würmer vor dem Einbringen in einem Glaszylinder einen Tag lang gehungert und sich entleert haben. Wichtig ist die Zunahme der kleineren Korngrößen. Wenn wir auch von der

Zunahme von rund 40 g der kleinsten Korngröße 18 g als auf Verdauungsreste der Nahrung abziehen, verbleibt immer noch ein Plus von ca. 22 g. Um nun von vornherein sicher zu sein, daß eine etwaige Zunahme der kleineren Korngrößen nicht etwa auf das zur Trennung der verschiedenen Korngrößen notwendige Sieben zurückzuführen sei, resp. um den Grad der Abreibung der Körner bei dem Siebeprozeß kennen zu lernen, machte ich einen entsprechenden Vorversuch:

In das Sieb wurde eine Portion von 250 g Granitpulver, d. i. diejenige Portion, die ich nach Ablauf der Versuchsdauer zur Trennung der einzelnen Korngrößen in das Sieb gab, getan und dieselbe wurde 7 mal je 3 Minuten lang geschüttelt.

Das Resultat war ein solches:

Gegeben:	Korngröße	I	100 g	Gefunden	97,8 g
	„	II	75 „		75,3 „
	„	III	50 „		50,3 „
	„	IV	25 „		25,8 „
				Verlust	0,8 „
	Summa		250 g		250,0 g

Nach jedesmaligem 3 Minuten langem Schütteln wurden die einzelnen durchgesiebten Korngrößen gewogen, wobei es sich herausstellte, daß 5 maliges je 3 Minuten anhaltendes Schütteln die richtigen Resultate ergibt, während erst längeres Schütteln zu einer Zunahme des feineren Pulvers infolge Abreibung führt, wie dies oben gezeigt wurde. Daher siebte ich nach Ablauf der Versuchsdauer die einzelnen Portionen des Granitpulvers nur je 5 mal je 3 Minuten lang, weswegen der durch Abreibung der Gesteinspartikel durch das Schütteln verursachte Fehler nur gering sein und nicht für das Entstehen der gefundenen Differenzen verantwortlich gemacht werden kann.

Was nicht minder für eine Zerkleinerung der Gesteinspartikel in den Kaumagen der Regenwürmer spricht ist der Umstand, daß die ausgeworfenen Exkremente, trotzdem das Granitpulver beim Einfüllen gut vermengt worden war, zumeist aus sehr feinem Gesteinspulver, vermischt mit Nahrungsresten (dunkle Färbung), bestanden; es ist aber unmöglich anzunehmen, daß die Würmer sich gerade nur die kleinsten Partikel zum Verschlucken hätten ausgewählt.

Obiger Versuch erweist die durch Darwin auf Grund vielfacher Beobachtungen ausgesprochene Vermutung, daß Regenwürmer kleine Gesteinspartikel zu zermahlen vermögen, als richtig, und vermag auch eine Erklärung der Ergebnisse von Wollnys Versuchen in bezug auf

die größere Minerallöslichkeit eines mit Regenwürmern bevölkerten Bodens zu geben: Durch das Zermahlen der kleineren Gesteinsteilchen werden nämlich immer neue frische Flächen der Wirkung gesteinslösender Agentien ausgesetzt.

2. Die Bakterienflora des Darmes und der Exkremente der Regenwürmer.

Die erwähnten Ergebnissse Wollnys über die erhöhte CO_2-Produktion und die Löslichkeit der Mineralsubstanzen in einem von Regenwürmern bewohnten Boden scheinen auch für eine erhöhte Zahl von Bakterien in einem solchen Boden zu sprechen.

Es ist ja bekannt, daß die Bakterien in allen tierischen Exkrementen überaus zahlreich vorkommen resp. sich entwickeln. Und doch finden wir trotzdem, wenn wir von der Deutung Dusserres und Hohls, welche das reichlichere Vorkommen von Salpeter in den Wurmexkrementen auf ein reichlicheres Vorkommen von Nitrifikationsmikroben darin zurückführen, absehen, in der spärlichen Literatur nur gegenteilige Ansichten vertreten.

Hjalmar Jensen (S. 459) gibt an, daß Denitrifikationsbakterien im Regenwurmdarm abgetötet werden.

Auch R. Kolkwitz (S. 672) sagt, daß „im ganzen Verlauf des Darmes der Regenwürmer sich nur verhältnismäßig wenige Bakterien (meist B. mycoides) finden“.

Um daher sichere Aufschlüsse über die Darmflora zu erhalten, wurde folgendermaßen verfahren.

Regenwürmer (fast stets Lumbricus terrestris) wurden der Gartenerde (bot. Garten, Basel), später auch anderen Böden (Acker-, Wiesen- und Waldböden) entnommen, möglichst bald unter der Wasserleitung kräftig abgespült, hierauf eine Abspülung derselben mit sterilisiertem Wasser, 1 ‰ Sublimat und nochmals sterilisiertem Wasser vorgenommen, und mit Chloroform getötet. Sofort wurden die Würmer unter Einhaltung aller aseptischen Kautelen unter einer Kapelle präpariert, und deren Magen- und Darminhalt zur Infektion verschiedener Nährböden, meist aber Agar- und Gelatineplatten, verwendet.

Hierbei ergaben sich keinerlei qualitative Unterschiede zwischen der Magen- und der Darmflora, weshalb von nun an stets 3 Serien von Platten gegossen wurden, die mit Darminhalt, Exkrementen und dem Boden, dem die Regenwürmer entstammten, beimpft wurden. Aber auch hierbei waren keine Unterschiede qualitativer Art bemerkbar, wohl aber fiel es auf, daß bei annähernd gleichen Impfungen (dieselbe Platinöse) sich besonders auf den mit Exkrementen beimpften

Platten viel zahlreichere Kolonien entwickelten und daß auf den mit Darminhalt beimpften seltener Streptothricheen und Schimmelpilze vorkamen.

Im ganzen wurden 26 mal Platten (in Petrischalen) gegossen, darunter 3 mal solche, die unter Luftabschluß und Sauerstoffabsorption durch Pyrogallol unter Glasglocken gehalten wurden. Als Nährsubstrat kamen vorwiegend Peptonagar und Gelatine, daneben auch Leguminoseninfusagar, Regenwurmbouillongelatine, Harnstoffgelatine, heiß dialysierter Agar mit diversen Nährsubstanzen und Kieselgallerte in Verwendung. Außerdem wurden noch öfters Kulturen in den verschiedensten flüssigen Nährmedien angelegt, wie auf Winogradskischer Lösung für nitrifizierende Bakterien, N-freien Lösungen für Buttersäuregärer und Azotobakter, Omelianskischer Lösung für Zellulosegärer, Giltayscher Lösung für denitrifizierende Bakterien und auf anderen.

Hierbei konnten isoliert und bestimmt werden:

21 mal Fluoreszierende (18 mal B. fluorescens Lehm. u. Neum.)
19 „ B. mycoides Flügge
16 „ B. subtilis Cohn
14 „ B. vulgatus Migula
13 „ Bact. turcosum L. N.
13 „ B. coli L. N.
11 „ Bact. chrysogloea Zopf
9 „ B. implexus Zimmermann
8 „ B. megatherium de Bary
8 „ B. luteus L. N.
7 „ B. mesentericus L. N.
7 „ B. plicatus Frankland
7 „ Bact. profusum Frankland
7 „ Bact. helvolum Zimmermann
7 „ Bact. luteum L. N.
7 „ B. aquatilis Tartaroff
6 „ Bact. Zopfi Kurth
6 „ B. laevis Frankland
6 „ B. nubilis Frankland
6 „ B. arborescens Frankland
6 „ B. albus Eisenberg
5 „ Bact. vulgare L. N. (Proteus, Hauser)
5 „ B. gracilis Zimmermann
5 „ B. stoloniferus Pohl
5 „ Bact. polymorphum Frankland

5 mal Bact. candicans Frankland
4 „ Bact. concentricum Zimmermann
4 „ Bact. latericium L. N.
3 „ Bact. ochraceum Zopf
3 „ B. scissus Frankland
3 „ B. denitrificans Stutzer
3 „ B. levans Lehmann u. Wolfin
3 „ B. sulcatus Weichselbaum
2 „ B. tumescens A. Koch
2 „ B. brassicae acidae L. N.
2 „ B. fumeus Lembke
2 „ Bact. prodigiosum L. N.
2 „ Bact. violaceum L. N.
1 „ B. mycoides roseus Scholl
3 „ Vibrio aquatilis Günther
1 „ Vibrio terrigenus Günther
16 „ Micrococcus candicans Flügge
6 „ Micrococcus luteus L. N.
6 „ Micrococcus roseus L. N.
4 „ Micrococcus concentricus Zimmermann
3 „ Micrococcus flavus L. N.
3 „ Micrococcus aquatilis Mead Bolton
8 „ Sarcina lutea Flügge
4 „ Sarcina aurantiaca Flügge
2 „ Sarcina alba Zimmermann
2 „ Sarcina flava de Bary
20 „ Streptothrix, meist alba; chromogena, violacea, aurantiaca, einmal eine neue blaue Art.

Auf den anaeroben Platten wuchsen meist nur Plectridien, darunter sehr wahrscheinlich der B. tetani.

Auf Harnstoffgelatine mit 5 % Ureum wuchsen nur wenige Arten, darunter sicher der B. Pasteuri Miquel, ein kleineres Stäbchen und eine Coli ähnliche Art, einige Schimmelpilze und eine winzige Mycoideskolonie, dagegen keine einzige Fluoreszenskolonie, obwohl sie sonst nie auf einer Platte fehlten, so daß die Angabe Beijerincks (II. S. 48) über die „Vorflora“ bei Anhäufungsversuchen für Ureumspalter, die im Gegensatz zu jener Miquels steht, auch durch diesen Versuch bestätigt wäre.

Auf dialysiertem Agar, der entweder nach Beijerincks Vorschrift oder heiß dialysiert hergestellt wurde, entwickelten sich ohne Zusatz

von gebundenem Stickstoff verschiedene, jedoch nicht weiter verfolgte Bakterien sehr üppig, besonders schön aber einige Streptothrixarten.

Ähnlich entwickelten sich auch auf Kieselgallerte ohne gebundenen Stickstoff verhältnismäßig zahlreiche Kolonien, darunter besonders schön die mit zunehmendem Alter sich dunkelbraun verfärbenden Azotobakterkolonien, der auf diese Weise bequem rein gezüchtet werden konnte.

Auch nitrifizierende Bakterien wurden auf entsprechenden Lösungen, sowohl wenn diese mit Darminhalt als auch mit Exkrementen beimpft wurden, kultiviert, desgleichen Zellulosegärer und anaerobe Buttersäuregärer.

Nicht jedesmal gelang die Anzucht von denitrifizierenden Bakterien, aber dies betrifft so gut den Boden wie den Darm und die Exkremente.

Auch Crenothrix polyspora konnte aus dem Darm gezüchtet werden.

Neben den 64 genannten Arten konnten noch 34 isolierte Arten nicht identifiziert werden. Diese kamen im ganzen weniger konstant und zahlreich vor wie die verhältnismäßig leichter bestimmbaren bekannten Bodenbakterien.

Eine neue Art aus Regenwurmexkrementen will ich aber schon hier erwähnen, Bacillus extorquens n. sp., die wegen ihres Vermögens, Oxalate, auch Kalziumoxalat, als alleinige Kohlenstoffquelle zu verarbeiten, näher untersucht worden war, worüber noch ausführlicher an anderer Stelle berichtet wird.

Außer den Bakterien wuchsen auf den Platten öfters, wenn auch besonders auf den mit Darm und Exkrementen beimpften bedeutend seltener, Schimmelpilze, meist Mucorarten, Aspergillus und Penicillium; daneben auch wilde Hefen, meist Rosahefe.

Bei der direkten mikroskopischen Betrachtung des Darminhaltes des Regenwurmes und seiner Exkremente sieht man recht zahlreiche Algen, besonders Diatomeen und Euglenaceen, und ebenfalls ziemlich zahlreiche Protozoen.

Die vorstehenden Ergebnisse beweisen, daß die Darmflora des Regenwurmes recht mannigfaltig ist und sich keineswegs von der des Bodens, dem die Regenwürmer entstammen, unterscheidet.

Im Anschluß hieran wurde noch eine Nachprüfung der schon erwähnten Angabe Hj. Jensens über die Vernichtung von denitrifizierenden Bakterien durch den Regenwurm unternommen, um so

mehr, als diese Angabe auch schon in Lafars „Handbuch der Technischen Mykologie“, Bd. III, S. 188, übergegangen ist.

Einige Regenwürmer wurden in einen mit Sand gefüllten breiten Glaszylinder gebracht und mit einigen Röhrchen einer gut entwickelten Pyocyaneus-Reinkultur auf Agar eine Woche lang gefüttert. Hierauf wurden 2 Regenwürmer mit einer sterilisierten Pinzette herausgeholt, unter der Wasserleitung gründlich abgespült, dann die Abspülung mit sterilisiertem Wasser, 1 ‰ Sublimat und wiederum mit sterilisiertem Wasser wiederholt. Der eine Regenwurm wurde sofort mit Chloroform getötet und präpariert, von seinem Darminhalt 6 Röhrchen mit Giltayscher Lösung beimpft und außerdem 3 Agarplatten angelegt. Der andere Wurm wurde genau, wie es Jensen (S. 458) getan, in ein sterilisiertes bedecktes Becherglas gebracht, und am nächsten Tage wurden mit den unterdes ausgestoßenen Exkrementen des Wurmes ebenfalls 6 Röhrchen mit Giltayscher Lösung und 3 Agarplatten beimpft. Alsbald zeigten alle Platten eine schöne intensive Fluoreszenz, die Pyocyaneus-Kolonien waren zahlreich entwickelt. Von den 12 Röhrchen mit Giltayscher Lösung zeigten 9 eine sehr starke Gärung mit der typischen feinen Schaumbildung. Die fehlende Schaumbildung in den übrigen 3 Röhrchen glaube ich auf zu geringe Impfmengen (vergl. Löhnis I, S. 448) zurückführen zu dürfen, wodurch eine rasche Überwucherung etwa vorhandener weniger Keime durch andere Bakterien eingetreten war. Wahrscheinlich hat H. Jensen aus demselben Grunde bei seinem Versuch keine Denitrifikation feststellen können, diese aber auf Tötung der Denitrifizierenden im Regenwurmdarm zurückgeführt.

Noch auf eine andere Weise wurde, um ganz sicher zu sein, der Versuch angelegt, und zwar: 3 große Regenwürmer wurden aseptisch präpariert und deren Magen und Darm in eine verschlossene sterilisierte Glasdose aufgeschnitten gelegt. Hierauf wurde mit den Magen- resp. Darmstücken eine Platinöse einer Reinkultur des B. pyocyaneus verrührt und davon jede 2 Stunden Proben zum Beimpfen von Giltayscher Lösung und von Agarplatten entnommen. Hierbei zeigte sich, daß erst nach 18 Stunden (wobei die Glasdose im Thermostat bei 28° stand) der Pyocyaneus von anderen Bakterien überwuchert worden war, so daß nach Ablauf dieser Zeit weder Denitrifikation in der Giltayschen Lösung eintrat noch der Pyocyaneus auf dem Agar sich entwickelte. Durch die Darmsäfte des Regenwurmes erfolgte sonach keine Abtötung des Pyocyaneus und man wird wohl annehmen können, daß auch andere Denitrifizierende ebensowenig abgetötet werden.

Überdies fand ich den B. Stutzeri zweimal im Darm und erhielt öfters bei Beimpfung mit Darminhalt in Giltayscher Lösung Denitrifikation.

Was noch die Streptothricheen anbetrifft, so sind die meisten derselben sicherlich nach Beijerincks Beobachtung und Ausdruck (I, S. 7) oligonitrophil. Eine weiße Art wurde während 4 Monaten auf N-freien Lösungen fortgezüchtet, wobei sie sich recht üppig entwickelte; ich vermute, daß diese Art den stickstoffbindenden Organismen zuzuzählen sei, wenn auch quantitative Versuche nicht unternommen worden sind.

Um auch einen Aufschluß über die quantitativen Verhältnisse der Darmflora des Regenwurmes zu erhalten, wurden zweimal Zählungen mittels der Plattenmethode vorgenommen.

Die Resultate sind in der untenstehenden Tabelle niedergelegt.

Anzahl der Bakterien, Hefen und Pilze pro 1 g Trockensubstanz

	Boden	Darm	Exkremente
Kleeboden, 21 % Wasser, im Dezember bei — 3 ° C	11 000 000	10 000 000	52 000 000
Wiesenboden, 18 % Wasser im Mai bei 16 ° C	20 000 000	148 000 000	64 000 000
Exkremente 22 % Wasser			
Darminhalt 47 % „			

Die Bodenproben wurden einer Tiefe von ca. 15 cm entnommen.

Bemerkenswert ist die viel höhere Zahl der Mikroorganismen in den Exkrementen gegenüber dem Boden.

Die Kolonienzahl auf den „Darmplatten“ spricht auch hier gegen die Angabe von Kolkwitz.

Bei diesen Zählungen wurde auch versucht, die Häufigkeit der einzelnen Arten festzustellen; die Zahlen waren aber so widersprechend und schwankend, daß sich eine Häufigkeitsskala gar nicht aufstellen ließ. Nur die Streptothricheen scheinen keinen so starken Schwankungen unterworfen zu sein. Sie betrugen in Prozent aller Kolonien

	Boden	Darm	Exkremente
Im Winter:	30 %	10 %	20 %
Im Sommer:	24 %	3,2 %	9 %

Allgemein ist die Abnahme der Streptothricheen im Sommer nur eine relative, da sich dann viele Bakterien mit einem höheren Temperaturbedürfnis rascher entwickeln. Schwieriger ist aber auch die absolute Abnahme der Streptothrixarten im Regenwurmdarm zu erklären. Wahrscheinlich liegt der Grund in der schnelleren Entwicklung der

Bakterien, die auf diese Weise die Streptothricheen überflügeln. Auf festem Substrat kommen nämlich die Streptothrixkolonien weit langsamer zur Entwicklung als viele Bakterien, wie man das auf fast jeder mit Boden beimpften Platte beobachten kann.

Was dann noch die Häufigkeit der einzelnen Arten anbetrifft, so stimmen meine Beobachtungen gut mit denjenigen von Fülles (S. 233) und Houston, ebenso, was das prozentische Verhältnis der Streptothricheen zu den anderen Bakterien im Boden betrifft, mit den von Hiltner (S. 128) gefundenen Zahlen überein.

Schimmelpilze und auch wilde Hefen waren im Darm und Exkrementen ziemlich selten.

Erwähnenswert scheint mir noch der Umstand, daß, was die so oft konstatierte Abnahme der Bakterien mit zunehmender Tiefe im Boden anbetrifft, dies für Regenwurmröhren nicht ganz zutreffend ist. Agarplatten, die mit Erdproben aus einer Wurmröhrenwand aus einer Tiefe von 80 cm und ein andermal von 60 cm beimpft worden waren, wiesen gegenüber Kontrollplatten, die mit Boden aus der gleichen Tiefe infiziert waren, weit höhere Kolonienzahlen auf.

Der Regenwurm verschleppt ohne Zweifel Bakterien in größere Tiefen und versorgt sie dort, durch Auspolsterung seiner Röhren mit Blattresten, Exkrementen u. dergl. mit Nahrungsstoffen.

3. Schlußbetrachtung.

Die exakten Untersuchungen Wollnys haben dargetan, daß der indirekte Anteil der Regenwürmer an den Zersetzungsvorgängen im Boden ein sehr beachtenswerter ist. Unser Versuch I zeigt, wie groß der direkte Anteil der Würmer an der Zersetzung pflanzlicher Substanz ist. Setzt man die Anzahl der Regenwürmer im Walde pro ha gleich 60000[1]), und nimmt man an, daß diese nur ca. 9 Monate pro Jahr tätig sind[2]), und ferner, wie der Versuch I zeigt, daß jeder Wurm pro Monat $1\,^1/_3$ g pflanzlicher Trockensubstanz verzehrt, so ergibt das pro

---

[1]) Ramann selbst, der Müllers Angaben über die Zahl der Regenwürmer in den Buchenwäldern Dänemarks für Preußen zu hoch findet, schätzt deren Zahl in Kiefernwäldern mit Buchen auf mindestens 60000; die gleiche Zahl gibt auch V. Hensen für Ackerland in Norddeutschland an; ich selbst fand, obwohl ich allerdings nur kleine Flächen umgegraben habe, in einem Buchenwald bei Basel weit mehr Regenwürmer, als es Ramanns und Hensens Zahlen entsprechen würde.

[2]) Henry (S. 131) fand Regenwürmer noch bei einer Temperatur von -4^0 in der Waldstreudecke tätig.

Jahr und ha 720 kg, was ungefähr, unter Zugrundelegung von Schroeders Berechnungen der jährlichen Streuproduktion im Buchenwald, $^1/_6$—$^1/_7$ der gesamten Streu ausmachen würde.

Doch wohl wichtiger ist die indirekte Einwirkung des Regenwurmes auf die Zersetzung der organischen Stoffe im Boden. In den Exkrementen fand sich stets eine bedeutend höhere Anzahl von Bakterien als im Boden, was dafür spricht, daß die mit dem Mineralboden innig vermischten Verdauungsreste ein besonders günstiges Nährmedium für die Bakterien im Boden darstellen und die Zersetzung organischer Substanz nach einer Passage durch den Regenwurmdarm besonders beschleunigt wird. Ein weiterer indirekter Anteil an der Beschleunigung der organischen Stoffzersetzung beruht auf der sehr starken Lockerung und Durchlüftung des Bodens durch die Regenwürmer (vergl. Wollny, S. 42—43, mein Versuch II), wodurch die Tätigkeit der aeroben Bakterien besonders begünstigt wird und eine schädliche Anhäufung von Säuren, wie sie besonders reichlich Anaerobier bilden, durch deren schnelle Verarbeitung, wie sie bei Luftzutritt stattfindet, verhindert wird.

Welche Bedeutung aber eine Beschleunigung der Zersetzung von organischen Stoffen für die Vegetation hat, das lehren uns besonders eindringlich die großen Torf- und saure Humusablagerungen, in denen die Zersetzungsvorgänge auf ein Minimum sinken und die für die volkswirtschaftlich wichtigen Pflanzen einen sehr ungünstigen Standort bilden.

Was noch die Zersetzung der Mineralbestandteile des Bodens anbetrifft, so hat auch an dieser der Regenwurm einen beträchtlichen Anteil, wie die Versuchsergebnisse Wollnys (S. 41) beweisen. Eine direkte Lösung der Gesteine im Regenwurmdarm wird wohl wegen der schwach alkalischen Reaktion[1]) des Darminhaltes nicht eintreten, wohl wird aber die Zersetzbarkeit der verschluckten Gesteinspartikel ohne Zweifel dadurch gefördert, daß diese im Magen aufs innigste mit der aufgenommenen organischen Substanz vermischt werden und so eher dem Angriff seitens der durch Bakterien produzierten organischen Säuren und besonders des Kohlendioxyds ausgesetzt werden. Abgesehen davon tritt, wie es Darwin vermutete und wie das Ergebnis unseres Ver-

---

[1]) Darwin (S. 28) und Krukenberg (zit. nach Fürth, S. 175) fanden oft im Magen und im Bereiche der ersten Leibessegmente saure Reaktion. Ich konnte stets nur eine schwach alkalische Reaktion feststellen, und zwar in allen Teilen des ganzen Darmtraktus. Damit scheint auch eher die Tatsache zu vereinigen zu sein, daß die Verdauung des Regenwurms eine tryptische, also nur bei alkalischer Reaktion stattfindende ist, und das Vorkommen von Kalkkonkrementen in den Exkrementen.

suchs III lehrt, eine Abreibung der Gesteinspartikel in dem kräftigen Muskelmagen ein, wodurch die bei der Verwitterung besonders von Feldspaten sich bildenden Kaolin- oder Tonrinden an den einzelnen Gesteinskörnchen entfernt werden. Diese Kaolinrinden würden der weiteren Verwitterung wegen ihrer Unlöslichkeit unüberwindliche Hindernisse bieten, während sie durch eine Passage durch den Regenwurm leicht abgerieben und die Gesteinskörner von neuem der Einwirkung der Verwitterungsagentien ausgesetzt werden.

Die Tätigkeit der Regenwürmer im Boden ist nicht nur für den Gärtner, wie Hensen meint, sondern noch mehr für den Landwirt und besonders für den Forstwirt von großer Bedeutung, und diese sollten auch mehr wie bisher ihre Aufmerksamkeit diesen nützlichen Tieren zuwenden.

II. Über die Zersetzung von Orthoklas durch Bodenbakterien.

Einleitung.

Die Untersuchungen über den Anteil der biologischen Faktoren an der Zersetzung der bodenbildenden Gesteine datieren eigentlich seit Jul. Sachs' berühmt gewordenen Korrosionsversuchen auf poliertem Marmor.

Durch diese Versuche gewann die alte Theorie von den Wurzelsekreten, obwohl Sachs die Frage nach der Natur des durch Wurzeln sezernierten Sekretes offen gelassen hatte, eine neue Bedeutung, weshalb seither mehrere Forscher diese Frage eingehend behandelt haben.

Nach Czapek, der auf künstlichen Kalziumkarbonat- und Kalziumphosphat-, nicht aber auf Aluminiumphosphatplatten Korrosionen durch Pflanzenwurzeln erzielte, hat den Hauptanteil an der Gesteinslösung das durch die Wurzeln ausgeatmete Kohlendioxyd (S. 389).

D. Prianischnikow findet große Unterschiede in der Ausnutzungsfähigkeit schwerlöslicher Phosphate durch verschiedene Pflanzen (I. 412, II. 188—189) und scheint dem Kohlendioxyd die Hauptrolle bei der Phosphatlösung zuzuschreiben, da er glaubt, daß vergleichende Untersuchungen über die Atmungsenergie der betreffenden Pflanzen seine Versuchsergebnisse wohl zu erklären vermöchten (II. 189).

G. Kunze, der nur auf Marmor und Wollastonit Korrosionen zu erzielen vermochte (365 u. 366), führt deren Entstehung auf CO_2-Wirkung zurück, da die verschiedenen Pflanzen unabhängig von ihrer Säuresekretion durch Wurzeln die genannten Gesteine korrodierten. Trotzdem aber, obwohl das überaus kümmerliche Wachstum seiner Versuchspflanzen

auf Leuzitbasalt- und Granitpulver (S. 367—369) eine andere Deutung zuließe, und obwohl er selbst (S. 367) den höheren Pflanzen die Fähigkeit, unverwittertem Gestein die nötigen Nährsalze zu entnehmen, abspricht, konkludiert er (S. 391), daß die durch die Wurzeln produzierte Säure die Bodenmineralien angreife und somit ernährungsphysiologische Bedeutung habe.

J. Stoklasa und A. Ernest, die die Forderung Prianischnikows in bezug auf vergleichende Untersuchungen der Atmungsenergie der Wurzeln verschiedener Pflanzen erfüllen (III, S. 84—86, 102), halten das Kohlendioxyd für das einzige Produkt, das bei der normalen Atmung der Wurzeln ausgeschieden wird (S. 62), führen die Bildung organischer Säuren durch die Wurzeln auf pathologische Prozesse infolge behinderter Sauerstoffatmung zurück (S. 64) und bestreiten aufs entschiedenste die Ausscheidung von Monokaliumphoshat (S. 61), wie es Czapek beobachtet haben will und welches nach dessen Ansicht (S. 332) durch Umsetzungsvorgänge mit den Bodenmineralien für die Nährstoffaufnahme der Wurzeln von Bedeutung wäre.

Die durch Gramineenwurzeln bewirkte Gesteinslösung finden sie ungefähr proportional der Intensität der CO_2-Ausscheidung (III, 90—101), wenn auch überhaupt die durch Gramineen unverwittertem Gestein entzogenen Nährsalzmengen äußerst minimal sind (vergl. III, 93 u. 97).

Die Resultate aller bisherigen Versuche in bezug auf Gesteinslösung durch Wurzeln der höheren Pflanzen lassen sich kurz dahin zusammenfassen, daß nur Karbonate von Kalzium und Magnesium, Phosphate von Kalzium und einfaches Kalziumsilikat merklich angegriffen werden, nicht dagegen die überaus wichtigen Doppelsilikate.

Von Algen ist es wiederholt konstatiert worden, daß sie Kalkgesteine stark zu korrodieren vermögen.

Flechten, von denen es bekannt ist, daß sie überall die ersten sichtbaren pflanzlichen Ansiedelungen auf nacktem Gestein bilden, dringen nach Bachmann (I, 101) in Glimmer ein und zersetzen ihn; auch Granat wird von ihnen stark zersetzt (III, S. 263—266), dagegen scheinen sie nicht Orthoklas, Plagioklas, Hornblende, Augit u. a. anzugreifen (I, 103, II, 17), und ebensowenig Quarz, obzwar Friedrich und Stahlecker von Quarzflechten berichtet haben, und der letztere die Korrosion von Quarz auf Ausscheidung sogar von Fluor seitens der Flechten zurückführt. Nach Bachmann (III, 271) beruht die beschleunigte chemische Einwirkung der Flechten auf Silikate allein auf Abgabe von Kohlendioxyd.

Gesteinslösung durch Pilze hat Kunze beobachtet; durch Auflegen von frischem Waldhumus auf polierte Marmor-, Apatit-, Wollastonit- und Apophyllitplatten konnte er Anätzungen resp. Verlust der Politur erzielen (383). Auch Penicillium glaucum in Pflaumendekokt als Nährsubstrat verursachte auf den genannten Mineralien und auch auf Elaeolith Verlust des Politurglanzes der Platten. Schimmelpilzkulturen auf pulverisiertem Gestein ergaben, daß die betreffenden Pilze aus dem Gestein, besonders aus Leuzitbasalt, ihren Nährsalzbedarf zu beziehen vermögen (S. 384 u. 385). Kunze schreibt sonach den Pilzen eine weit stärkere gesteinsaufschließende Wirkung als den höheren Pflanzen zu (S. 391). S. de Grazia und G. Camiola (I, S. 208) fanden in Kulturen auf gepulvertem Leuzit durch Schimmelpilze ungefähr das Doppelte aus diesem Mineral gelöst gegenüber der sterilen Kontrolle.

Was endlich eine Gesteinslösung durch Bakterien anbetrifft, so hat wohl als erster A. Muntz in dieser Richtung bestimmte Vermutungen geäußert (S. 1370), angeregt durch seine Befunde über das regelmäßige Vorkommen von Nitrifikationsmikroben auf nackten Felsen im Hochgebirge (S. 1371), denen er, besonders mit Rücksicht auf ihre geringe Größe und daher die Leichtigkeit, auch in die feinsten Gesteinsspalten einzudringen, einen wichtigen Anteil an der Gesteinsverwitterung zuspricht (S. 1372).

Seither wiederholen sich in der einschlägigen Literatur des öfteren derartige Hinweise und Vermutungen (Sestini, Behrens, Bredemann).

Experimentell untersuchte zuerst Stoklasa die Befähigung der Bakterien zur Phosphatlösung aus Knochenmehl, wobei er, besonders durch die säureproduzierenden gemeinen Bodenbakterien, wie Bacillus mycoides, B. mesentericus vulgatus, B. megatherium u. a., recht ansehnliche Phosphatmengen in Lösung gehen sah (I, S. 533).

Seither sind Untersuchungen über Phosphatlösung durch Bakterien von zahlreichen Forschern unternommen worden, mit dem Resultat, daß alle eine größere oder geringere Lösung der untersuchten schwer löslichen Phosphate in Bakterienkulturen konstatieren konnten.

Die Hauptwirkung hierbei scheint den durch die Bakterien produzierten Säuren (vergl. Koch u. Körber (S. 571), Körber (S. 463), Perotti (S. 414), Stålström) zuzukommen, wiewohl Sacket, Patten und Brown (S. 701 u. 702) und Stoklasa (IV) auch das Kohlendioxyd nicht unterschätzen. S. de Grazia (II, 271) hält auf Grund seiner Beobachtungen auch die durch Mikroorganismen produzierten Enzyme an der Phosphatlösung beteiligt.

Auch die Kalklösung durch Bakterien wurde von Sackett, Patten und Brown untersucht, wobei 36 von 50 Bakterienarten bei Zuckerdarreichung das Karbonat zu lösen vermochten (S. 702).

Untersuchungen über Silikatzersetzung durch Bakterien liegen bisher nicht vor, obwohl es auf Grund ihrer vielfachen Säureproduktion und der intensiven CO_2-Ausatmung, worüber besonders Stoklasa mit seinen Mitarbeitern eingehend berichtet hat, sehr wahrscheinlich ist, daß gerade die Bakterien an der Silikataufschließung im Boden stark beteiligt sind.

Im allgemeinen könnten Bakterien mittels der folgenden chemischen Faktoren Gesteinszersetzung verursachen:

1. Durch Produktion von Kohlendioxyd,
2. „ „ „ organischen Säuren,
3. „ „ „ Ammoniak (Basenaustausch mit den Mineralien),
4. „ „ „ salpetriger und Salpetersäure durch Nitrifikationsmikroben.

I. Korrosionsversuche.

Zum Nachweis einer biologischen Einwirkung auf die Gesteine bieten Korrosionsversuche große Vorteile, erstens wegen der Handlichkeit dieser Methode und zweitens wegen der Augenfälligkeit ihrer Resultate. Da bisher noch niemals Bakterien zu Korrosionsversuchen verwendet worden sind, so versuchte ich vorerst festzustellen, ob auf leichtzersetzbarem Gestein, z. B. Marmor, Korrosionen durch Bakterienwachstum sich erzielen ließen.

Auf polierte Platten von dichtem Marmor wurde eine 1prozentige Dextrose-Peptonlösung in M-Formen ausgebreitet; jede dieser M-Formen mit einer aus Regenwurm reinkultivierten Bakterienart, im ganzen 14 Arten beimpft, und die Marmorplatten in Petrischalen, die mit nassem Filtrierpapier gegen Austrocknen der Nährlösung auf den Platten ausgekleidet waren, gesetzt und bei Zimmertemperatur gehalten.

Nach 14 Tagen wurde die Kulturflüssigkeit mit destilliertem Wasser von den Platten gespült, wobei es sich herausstellte, daß nur 3 Bakterien, darunter Bacillus vulgatus, keine Korrosionen des Marmors hervorgebracht haben. Die übrigen Platten erwiesen sich mehr oder weniger stark angeätzt, die M-Form hob sich sehr deutlich von der glänzenden polierten Umgebung ab. Die sterile Kontrolle zeigte in der M-Form den gleichen Glanz wie die Umgebung, nur war sie, wohl durch Eindringen der Nährlösung in den Marmor, ein wenig gelblich verfärbt.

Die stärksten Korrosionen erzeugten Bacterium coli, B. acidi lactici und besonders der B. extorquens n. sp., wo die M-Form ein ganz kreidiges rauhes Aussehen und kleine Grübchen aufwies.

Polierte Platten einer zweiten Serie, die erst nach 2 Monaten untersucht wurden, waren noch bedeutend stärker korrodiert. Die unterdeß ein wenig verdunstete Nährlösung enthielt viele große Kristalle, in der Kultur des B. extorquens solche bis 3 mm Durchmesser, die, ihren Reaktionen gemäß, aus kohlensaurem Kalk bestanden.

Ein analoger Versuch mit feingespaltenen Kaliglimmerblättchen, worauf in Tröpfchen von Bouillon B. mycoides, B. subtilis, B. vulgatus, B. megatherium, B. fluorescens und ein nicht bestimmtes Bakterium geimpft wurden, verlief negativ. Auch nach 2 Monaten behielt der Glimmer noch seinen Glanz und auch bei starker Vergrößerung konnte nicht die geringste Anätzung konstatiert werden.

Bei einem anderen Versuch, wo Glimmerblättchen auf schon entwickelte Agarstrichkulturen der oben erwähnten Bakterienarten gelegt wurden, konnte ein Eindringen von sehr zahlreichen Bakterien zwischen die Glimmerlamellen bis 4 mm vom Rande aus festgestellt werden, auch nahm der Glimmer an den Rändern ein weißliches Aussehen an, doch auch hierbei zeigten die den Bakterienstrichen aufliegenden Glimmerflächen keine Anätzungen.

Allerdings gehört der Glimmer zu den am schwersten zersetzbaren Mineralien, so daß aus diesem Versuch nicht geschlossen werden dürfte, daß Bakterien nicht auch Silikate anzugreifen vermöchten.

II. Kulturen in kalifreien Medien mit Feldspatpulver.

Seit längerer Zeit benutzt man zwecks schnellerer Diagnostik von Milchsäurebakterien zum Plattengießen Agar mit einer Aufschwemmung von recht feingepulverter Kreide. Um die Kolonien der Milchsäurebakterien bilden sich dann nach einigen Tagen aufgehellte Zonen, in denen die Kreide gelöst ist. Ich versuchte darum mit Hilfe dieser Methode unter Anwendung von Feldspatpulver eine etwaige Lösung desselben durch Bakterien festzustellen.

Ein vier Tage lang bei 90—95^0 unter fortwährendem Zufluß von heißem destilliertem Wasser dialysierter Agar wurde mit 1 % reinster Saccharose, 0,1 % Asparagin und je 0,05 % phosphor- und schwefelsaurem Ammonium versetzt, und in diesem Agar dann gebeuteltes Orthoklaspulver (von Kragerö, Norwegen) aufgeschwemmt. Als Impfmaterial dienten je eine Öse Erde, Darminhalt und Exkremente vom Regenwurm, worauf Platten in Petrischalen gegossen wurden.

Unter den mannigfaltigen, auf diesem Agar zur Entwickelung gelangten Kolonien waren einige sehr auffallend; diese schleimigen Kolonien bildeten um einzelne größere Orthoklaspartikel Wälle oder Ringe; innerhalb dieser Ringe und über dem Mineralpartikel war gewöhnlich eine größere Gasblase, wohl von Kohlendioxyd. Da auf gewöhnlichem Agar ohne Feldspatzusatz diese Ringbildung nicht eintrat, so schien nur der Feldspat diese Hofbildung hervorzurufen. Eigentümlich aber war es, daß nur das eine Bakterium, und zwar war es Bacillus tumescens A. Koch, diese Hofbildung aufwies.

Um etwaige Veränderungen an den Feldspatpartikeln unter der Einwirkung dieses Bakteriums genau verfolgen zu können, wurden Glaskästchenkulturen angelegt. Diese Glaskästchen bestehen aus festverkittetem Spiegelglas, in den Dimensionen von 6 cm Länge, 4 cm Breite und 1 cm Höhe. Entsprechend große Deckgläser werden mit „Pumpenfett“ oder Vaselin auf den geschliffenen Rand dicht aufgelegt, so daß keine Verdunstung des dem Deckglas anhaftenden Nährsubstrats, das wiederum von unten mit einem kleineren Deckgläschen bedeckt werden kann, eintreten kann. Um das Verdunsten von Nährflüssigkeit und deren Kondensation an den Wänden zu verhindern, genügt es, einen Tropfen Wasser in einer Ecke des Kästchens auf dem Boden anzubringen, so daß man wochenlang die Entwickelung von Algen-, Pilz- und Bakterienkulturen ohne jede Störung durch etwaige Konzentrationsänderung der Nährlösung, Luftmangel und dergl. mikroskopisch, bei Wahl von entsprechend dünnen Deckgläsern auch bei stärkster Vergrößerung, verfolgen kann. Diese äußerst praktischen Glaskästchen bieten darum den sonst gebräuchlichen feuchten Kammern aus Pappe, Glasringen und dergl. gegenüber große Vorteile. Auf dem auf die Glaskästchendeckgläser fein ausgebreiteten feldspatpulverhaltigen Agar wurden Striche mit einer Reinkultur des Bacillus tumescens gezogen, deren Entwickelung bei starker Vergrößerung längere Zeit hindurch verfolgt wurde. Die Bakterienstriche, sofern sie über größere Feldspatpartikel zogen, wiesen dieselbe Hofbildung wie auf den Agarplatten auf. An den einzelnen Orthoklassplittern, die beim Ansetzen der Kulturen genau gemessen und gezeichnet wurden, konnte aber auch nach zwei Wochen keinerlei Abnahme ihrer Größe bemerkt werden.

Eine weitere Eigentümlichkeit bei dieser Hofbildung war die, daß ausgewaschenes (mehrere Wochen lang mit destilliertem Wasser täglich kräftig geschütteltes) Orthoklaspulver nicht oder nur sehr selten Anlaß zur Hofbildung bot.

Mittels der Chemotaxis-Methode wurde es versucht festzustellen, welcher Stoff diese Hofbildung veranlasse; jedoch wegen der äußerst geringen Beweglichkeit des B. tumescens verliefen diese Versuche ergebnislos.

Übrigens haben Hofbildung in Bakterienkulturen um Metallsplitter früher schon Behring, Credé, Thiele und Wolff beobachtet; es handelt sich hierbei wahrscheinlich um Giftwirkungen (Nägelis oligodynamische Wirkungen); daß aber beim Orthoklas Giftwirkungen nicht anzunehmen sind, lehrt deutlich das Verhalten dieses Bakteriums auf dem dialysierten Agar mit und ohne Feldspat, desgleichen in einer kalifreien Lösung mit und ohne Zusatz von Feldspatpulver.

Auf dem eingangs erwähnten Agar mit Zusatz von pulverisiertem Orthoklas entwickelte sich der B. tumescens völlig normal und bildete nach einigen Tagen sehr reichlich Sporen. Auf demselben Agar ohne Feldspatzusatz bildete er in kürzester Zeit die seltsamsten Involutionsformen und es kam nicht zur Sporenbildung. Daß dieses Verhalten kein zufälliges ist, konnte an sehr zahlreichen vergleichenden Kulturen zu verschiedenen Zeiten immer wieder festgestellt werden.

Nicht minder different erwiesen sich Kulturen desselben Bacillus in kalifreien Lösungen, die in destilliertem Wasser 1 % Saccharose, 0,1 % Asparagin und je 0,05 % schwefel- und phosphorsaures Ammonium enthielten; die Lösung wurde in Kölbchen von Jenaer Glas verteilt, in die eine Serie (12 Kölbchen) ca. 1 % gepulvertes Orthoklas zugesetzt, während die zweite Serie keinen Zusatz erhielt. Hierauf wurden die beiden Serien mit einer Sporenaufschwemmung in einer ebensolchen kalifreien Lösung beimpft.

Nun wurde die Entwickelung des Bakteriums in den einzelnen Kölbchen fortlaufend mikroskopisch kontrolliert. Dabei ergab sich, daß nach Verlauf von 16—18 Stunden die Sporen in den Kölbchen mit Feldspatzusatz sämtlich ausgekeimt waren, nicht dagegen in der Serie ohne Feldspat.

In den Kölbchen dieser Serie erfolgte die Auskeimung durchweg erst 24 bis 41 Stunden später. Während ferner die ausgekeimten Stäbchen in der Feldspatserie ein normales Aussehen behielten und noch 48 Stunden nach dem Auskeimen ihre übliche geringe Beweglichkeit aufwiesen, konnte kein einziges bewegliches Stäbchen in den feldspatfreien Kölbchen bemerkt werden; überdies waren in dieser Serie schon nach 24 Stunden (von der Keimung an gerechnet) sehr zahlreiche Involutionsformen vorhanden und auch die übrigen nicht involierten Stäbchen wiesen eine starke Körnung auf. In der Feldspatserie waren

24 Stunden nach der Keimung die Feldspatpartikel von Bakterienflocken dicht umgeben.

Die Hälfte der Kölbchen beider Serien wurde nach Verlauf von 13 Monaten nochmals mikroskopisch geprüft. In den Kölbchen der Feldspatserie bildete der Feldspat dicht mit Bakterien durchsetzte Konglomerate; viele Bakterien wiesen noch normales Aussehen auf, es waren sehr wenige Involutionsformen, dagegen sehr viel Sporen. Der Inhalt der Kölbchen ohne Feldspat dagegen wies lauter zerfallene Stäbchen auf und keine Sporen.

Die so frappanten Unterschiede im Wachstum beider Serien lassen sich nur durch das Fehlen von Nährsalzen in genügender Konzentration erklären. Der Aschengehalt der Sporen reichte in der feldspatfreien Serie wohl zu einer anfänglichen Entwicklung aus, wenn auch schon die Keimung merklich verzögert worden war; zur weiteren normalen Entwicklung und Vermehrung aber war der Mineralvorrat der Sporen offenbar zu gering, die Bakterien degenerierten und vermochten keine Sporen mehr zu bilden.

III. Quantitative Bestimmung des in Bakterienkulturen in Lösung gegangenen Feldspates.

Wenn auch aus dem vorhin besprochenen Versuch zu schließen ist, daß Bakterien ihren Mineralbedarf einem unverwittertem pulverisierten Feldspat zu entziehen vermögen, so ist doch die Frage nach der quantitativen Seite dieses Prozesses von größerer Bedeutung. Da aber von vornherein mit einer nur sehr geringen Lösung des Feldspats gerechnet wurde, sind die quantitativen Versuche mit der allergrößten Sorgfalt und Genauigkeit ausgeführt worden.

I. Versuch.

Das für diese Versuche verwendete destillierte Wasser wurde in einem Destillierapparat von Jenenser Glas nochmals zweimal destilliert und in Jenenser Glasgefäßen aufbewahrt. Alle Chemikalien wurden von Merck-Darmstadt als „chemisch rein" bezogen, außerdem von der Dextrose 5 g und vom Asparagin 2 g auf Platinblech verascht, wobei keinerlei Rückstand verblieb. Die Kulturgefäße, Erlenmeyerkölbchen aus Jenaer Glas von 200 ccm Inhalt, wurden 1 Tag mit konzentrierter Chromschwefelsäure stehen gelassen, hierauf gründlich und wiederholt mit dem 3fach destillierten Wasser gespült und schließlich mit diesem Wasser gefüllt 2 Wochen lang stehen gelassen. Das Feldspatpulver (unverwitterter Orthoklas von Kragerö, Norwegen) dessen Korngröße bis 0,4 mm betrug, wurde gelinde geglüht (nach Bischof, Bd. II, S. 393,

wird Orthoklas durch Glühen nicht verändert) und hierauf in die einzelnen Kulturkolben möglichst genau abgewogen.

Die Nährlösung, aufs sorgfältigste bereitet, enthielt:

1000 ccm Wasser
10 g Dextrose puriss. Merck
1 „ Asparagin puriss. Merck
0,5 „ phosphorsaures Ammon puriss. Merck
0,5 „ schwefelsaures Ammon puriss. Merck

Hiervon wurden je 25 ccm in die einzelnen Kulturkölbchen abpipettiert, nach erfolgter Sterilisation mit je einer Spur von einer Agarreinkultur der betreffenden Bakterien beimpft und im Dunkeln bei Zimmertemperatur aufgestellt und sich selbst überlassen.

Während der ganzen Versuchsdauer wurde die Kulturflüssigkeit 4mal auf ihre Reaktion hin geprüft, und dabei das Feldspatpulver aufgeschüttelt. Die Reaktion war in allen beimpften Kölbchen sauer, in einigen sogar stark sauer geworden, während die sterilen Kontrollen, wie zu Anfang, so auch später die neutrale Reaktion beibehielten. Etwa verdunstete Flüssigkeit wurde nicht nachgefüllt.

Die Entwicklung der Bakterien war in allen Kölbchen eine gute, in einigen sogar sehr stark. In manchen Kölbchen war das Feldspatpulver derart von Bakterien durchsetzt, daß es sich nicht mehr aufschütteln ließ.

Nach Ablauf der Versuchsdauer wurden die Kulturen mit dem Feldspatpulver durch sehr dichte Goochtiegel klar filtriert (die Goochtiegel wurden vorher auf ihre Fähigkeit, auch feinstes Pulver zurückzuhalten, sorgsam geprüft. Papierfilter waren ungeeignet, da kein einziges der im Handel erhältlichen Papiere völlig klare Filtrate gab), die Tiegel in größeren Porzellantiegeln auf Asbestringen aufgehangen und bei ca. 400° (Blei wurde in einem Versuchstiegel geschmolzen, nicht aber Zink) bis zur Gewichtskonstanz erhitzt.

Die Bakterienmasse ließ sich hierbei, besonders wenn sie mit dem Orthoklas gut vermengt war, ziemlich leicht veraschen, so daß der Feldspatrückstand seine ursprüngliche Farbe, mit einem schwachen Stich ins Rötliche, behielt.

Zur Feststellung des bei diesen Operationen unvermeidlichen Fehlers wurden 9 blinde Versuche ausgeführt, in denen der Durchschnittsfehler, mit geringen Schwankungen in den einzelnen Versuchen, −0,21 % betrug.

Tabelle I.

Nr. des Kulturgefäßes	Beimpft mit	Kulturdauer in Tagen	Orthoklaspulver				Im Filtrat nachgewiesen
			Gegeben in g	Wiedergefunden in g	Verlust in g	Verlust in %	
1	B. acidi lactici Hueppe	301	1,2318	Pilzinfektion		—	—
2		305	1,0348	1,0267	0,0081	0,78	?
3	B. lactis acidi Leichm.	321	1,4384	1,4247	0,0137	0,945	K und SiO_2
4		307	1,4392	1,4253	0,0139	0,96	K „ SiO_2
5	B. tumescens A. Koch	293	1,1483	1,1342	0,0141	1,22	K „ SiO_2
6		308	1,1238	1,0463 ?	?	?	—
7	B. pyocyaneus	306	1,1800	1,1736	0,0064	0,54	?
8		311	1,1981	1,1912	0,0069	0,57	?
9	B. subtilis	320	1,0128	1,0066	0,0062	0,61	?
10	Sterile Kontrolle	309	1,9733	1,9649	0,0084	0,42	?
11	B. mycoides	310	1,0453	1,0338	0,0115	1,10	K und SiO_2
12		312	1,0582	1,0457	0,0125	1,15	K „ SiO_2
13	B. coli	313	1,3077	1,2971	0,0106	0,81	K „ ?
14		315	1,3481	1,3362	0,0119	0,88	K „ SiO_2
15	B. prodigiosus	314	0,9695	Pilzinfektion		—	—
16		317	0,6447	0,6378	0,0069	1,07	K
17	B. vulgatus	302	0,7959	0,7884	0,0075	0,94	?
18	Sterile Kontrolle	309	0,9420	0,9389	0,0031	0,33	?
19	B. megatherium	310	0,9296	0,9187	0,0109	1,17	K und SiO_2
20	B. fluorescens	313	0,6986	0,6918	0,0068	0,97	K „ SiO_2
21	B. chrysogloea	312	0,6866	0,6804	0,0062	0,90	SiO_2

Die Filtrate, die aus der Kulturflüssigkeit und stets 50 ccm destilliertem Wasser, das zur gründlichen Entfernung auch der geringsten Feldspat- und Bakterienreste aus den Kulturgefäßen in kleinen Portionen verwendet wurde, bestanden, wurden eingeengt, im Platintiegel eingedampft und zur Entfernung des etwa noch vorhandenen unverbrauchten Zuckers und der Ammonsalze geglüht, mit schwacher Salzsäure aufgenommen, in 2 Portionen geteilt und auf Kali mit Chloroplatinat, auf Magnesia mit Ammoniumnatriumphosphat, auf Kalzium mit heißem Ammonoxalat und auf Kieselsäure geprüft.

Die Tabelle auf Seite 23 gibt über die Resultate Auskunft.

Die Tabelle zeigt vor allen Dingen eine größere Löslichkeit des Feldspates in den Bakterienkulturen, in welchen im Durchschnitt 0,91 % des gegebenen Feldspatpulvers gelöst worden war, gegenüber den sterilen Kontrollen, mit einer Löslichkeit im Durchschnitt von 0,38 %. Kali war im Filtrat, wo angegeben, deutlich nachweisbar an den wohlausgebildeten goldgelben oktaëdrischen, in Alkohol unlöslichen Kristallen von $K_2(PtCl_6)$. Auch Kieselsäure war in den meisten Filtraten, beim Abdampfen mit Salzsäure, Aufnehmen mit Natronlauge und wiederholtem Eindampfen mit Salzsäure, wobei sich ein in Salzsäure unlöslicher, weißlicher, amorpher Niederschlag bildete, nachzuweisen. Nicht nachweisbar blieben Magnesium und Kalzium, dagegen gaben die meisten Filtrate mit Kaliferrozyanat eine Blaufärbung, also Eisen.

Beim Versetzen der stark eingeengten Filtrate mit schwacher Salzsäure brausten einige, wenn auch schwach, auf, weshalb ich annehme, daß bei der Lösung des Feldspatpulvers das durch die Bakterien ausgeatmete Kohlendioxyd eine größere Rolle spielte, als die aus Zucker gebildeten Säuren; auch waren alle Filtrate mehr oder weniger sauer, die Säuren scheinen demnach im Überschuß gegenüber den gelösten Basen vorhanden gewesen zu sein, und trotzdem gingen nur derart geringe Mengen Orthoklas in Lösung. Um daher sicherere Anhaltspunkte über die Lösung von Feldspat einzig durch Kohlendioxyd seitens der Bakterien zu gewinnen, unternahm ich den folgenden Versuch mit dem Bacillus extorquens n. sp., von dem es festgestellt wurde, daß er aus Oxalaten nur CO_2, aber keine organischen Säuren bildet.

II. Versuch.

Für die Kulturen in diesem Versuch wurde leitunfähiges Wasser, das im hiesigen chemischen Institut hergestellt und in einem mit reinstem Paraffin ausgekleideten Kolben von Jenaer Glas aufgefangen und aufbewahrt wurde, verwendet.

Die Nährlösung bestand aus:

0,25 % Ammonoxalat puriss. Merck
0,025 % Ammonphosphat puriss. Merck und
0,025 % Ammonsulfat puriss. Merck.

5 g des von Merck als „puriss." bezogenen Ammonoxalates und 5 g einer gleichen kristallisierten Oxalsäure, die während des Versuches wegen dem fortgesetzten Verbrauch des $C_2O_4^{\cdot\cdot}$ zur Neutralisation der Kulturflüssigkeit verwendet wurde, hinterließen, auf Platinblech verascht, keinen Rückstand.

Als Kulturgefäße dienten zwei 2-Liter-Kolben von Jenaer Glas und zwei Quarzkölbchen von 25 ccm Inhalt.

Das in die Versuchsgefäße aufs sorgfältigste eingewogene gelinde geglühte Orthoklaspulver (von Kragerö, Norwegen) war weniger fein wie das im vorigen Versuch angewandte. Ca. 25 % des Pulvers hatten eine Korngröße von über 0,42 mm. Die Operationen mit der Wiederwägung des Pulvers nach Ablauf der Versuchsdauer waren dieselben wie im vorigen Versuch.

Die Filtrate erfuhren hier eine andere Behandlung mit Rücksicht auf die Abwesenheit von Zucker und Asparagin. Sie wurden eingeengt, mit $CaCl_2$ etwa noch vorhandene Oxalsäure gefällt[1]), filtriert, eingedampft und das Ammoniak durch Erhitzen verjagt. Darauf mit schwacher Salzsäure aufgenommen, in 2 Portionen verteilt und die Bestimmung von Kali, Magnesium, Eisen und Kieselsäure wie im vorigen Versuch durchgeführt. Die Filtrate der zwei sterilen Kontrollen waren, wie zu Beginn des Versuches, neutral, die der Bakterienkulturen sehr stark alkalisch (wohl wegen überschüssigem Ammon, da sie beim Versetzen mit Salzsäure nicht aufbrausten).

Die folgende Tabelle II gibt über die Resultate Aufschluß.

Überraschend war die aus der Tabelle ersichtliche starke Lösung des Orthoklases durch den B. extorquens; in den Kulturen war allerdings das Gesteinspulver durch dicke und zähe Häute dieser Bakterie derart umhüllt, daß es sich nicht aufschütteln ließ, auch zeigte die immer wieder stark alkalisch werdende Flüssigkeit, besonders im Kolben 2 bei Zusatz der zur Neutralisation notwendigen Oxalsäure Bläschenbildung; immerhin wurde eine derart bedeutende Lösung des

---

[1]) Die in den Bakterienkulturen noch vorhandene geringe Oxalatmenge wurde in einer kleinen Portion durch Titrieren mit $^1/_{10}$ n $KMnO_4$ festgestellt und danach der Zusatz von $CaCl_2$ bemessen.

Gesteins nicht erwartet, sonst wäre versucht worden, wenigstens im Filtrat des Kolbens 2 das Kali quantitativ zu bestimmen.

Überdies wird wohl, besonders im Kolben 2, noch mehr Orthoklas in Lösung gegangen sein, aber die Feststellung der genauen Menge wurde dadurch vereitelt, daß die dicken Bakterienhäute beim Erhitzen des Rückstandes im Goochtiegel sich nicht völlig veraschen ließen, so daß ein beträchtlicher Teil der Bakterientrockensubstanz als ungelöster Feldspat in der Tabelle figuriert.

Tabelle II.

	Nr. des Versuchsgefäßes	Kulturflüssigkeit in ccm	Beimpft mit	Kulturdauer in Tagen	Orthoklaspulver Gegeben g	Orthoklaspulver Gefunden g	Orthoklaspulver Verlust in g	Orthoklaspulver Verlust in %	Im Filtrat nachgewiesen
Jenaer Glas	1	1000	ster. Kontrolle	68	16,9866	16,9704	0,0162	0,09	K
Jenaer Glas	2[1]	1000	B. extorquens	64	10,7197	10,3282	0,3915	3,65	sehr stark K; SiO_2, Fe. unsicher Mg.
Quarz	3	10	ster. Kontrolle	60	0,7377	0,7359	0,0018	0,24	?
Quarz	4[2]	10	B. extorquens	62	0,8318	0,8045	0,0273	3,28	K und SiO_2

Die Menge des durch den B. extorquens im Kulturkolben Nr. 2 gebildeten Kohlendioxyds betrug ungefähr 5 g, welche Menge berechnet wurde aus den Ergebnissen anderer Versuche, betreffend die Verarbeitung von Oxalaten durch diese Bakterie. Die Lösung des Gesteins konnte nur durch CO_2-Produktion durch die Bakterie verursacht werden, da er keine anderen Stoffwechselprodukte bildet.

Der letztere Versuch lehrt, daß Bakterien mit starker Atmungsenergie recht bedeutende Mengen Feldspat, wenn dieser in Pulverform vorliegt, zu lösen vermögen.

III. Versuch.

Zum Schluß will ich noch kurz mitteilen, daß Kulturen des Bacillus mycoides, B. subtilis, B. vulgatus, B. fluorescens und zweier Streptothrixarten Feldspatstücke, die sauber abgespalten waren, im Gewichte von je 0,2—5 g, in einer durch Wiederwägung der Stücke sich sicher fest-

[1] Im Laufe des Versuches zur Neutralisation 7,35 g krist. Oxalsäure zugesetzt.

[2] Im Laufe des Versuches zur Neutralisation 0,26 g krist. Oxalsäure zugesetzt.

stellenden Weise nicht angegriffen hatten. Die Bakterien entwickelten sich in den Kulturen, die kalifrei waren, sehr gut, die Gewichtsdifferenzen an den Feldspatstücken lagen aber immer noch innerhalb der Versuchsfehlergrenze.

IV. Schlußbetrachtung.

Von Bischof (Bd. I, 31, 424) und Struve wurde das CO_2-haltige Wasser als das wichtigste Agens bei der Silikatzersetzung erkannt. Neben anderen Forschern haben besonders K. Haushofer, R. J. Müller und Fr. Šicha diesen Vorgang quantitativ verfolgt. In Haushofers Versuchen ging im CO_2-gesättigten Wasser mehr als das Doppelte aus feinstgepulvertem Granit in Lösung als in reinem Wasser (S. 125), im ganzen aber nur 0,086 % in 8 Tagen und der 25fachen Gewichtsmenge Wasser. R. J. Müller fand in 7 Wochen durch die 100fache Gewichtsmenge Wasser unter einem Kohlendioxyddruck von 3 1/4 Atmosphären 0,328 % des angewandten Adulars gelöst (S. 7), während in Šichas Versuchen bei 10—50 Atmosphären Kohlendioxyddruck und der 12—13-fachen Gewichtsmenge Wasser in 1—28 Tagen 0,466—0,86 % des angewandten Feldspates in Lösung gingen (S. 27—31).

In unseren Versuchen, und insbesondere im II. Versuch wurden weit größere Mengen Orthoklas durch die Bakterien in Lösung gebracht, nämlich ungefähr das 10fache des von Müller an ähnlichem Mineral konstatierten.

Auch in unseren Versuchen wurde die Zersetzung des Feldspates hauptsächlich wohl durch das von den Bakterien ausgeatmete Kohlendioxyd verursacht, da in den Kulturen der Bakterien mit starker Atmungsenergie, wie Bacillus tumescens, B. mycoides und besonders B. extorquens größere Mengen Feldspat in Lösung gingen als in den Kulturen der anderen Bakterien. Nach Stoklasas Angaben (IV, S. 401) scheidet 1 g Trockensubstanz des B. mycoides bei 25 ° in 24 Stunden 0,213 g CO_2 aus; B. extorquens produziert in der gleichen Zeit auf Ammonoxalat nach meinen Versuchen erheblich mehr CO_2, und zwar bis 2,5 g; daher wohl auch eine stärkere Lösung des Feldspates in der Kultur dieser Bakterie.

Die Zeit spielt hierbei, wie ein Vergleich der Resultate von Versuch I mit denen des Versuchs II schon andeutet, und wie es schon Haushofer, Müller (S. 19) und Šicha bemerkten und wie ich es in einer folgenden Publikation zu zeigen gedenke, keine Rolle. Die meisten Bakterien in den Kulturen des I. Versuchs waren bei dessen Abbruch

auch tot, so daß sie keinerlei Wirkung mehr auf das Mineral ausüben konnten.

Wenn man dann einerseits die Resultate von Pflanzenkulturen auf pulverisiertem Gestein von Kunze (S. 368—369), Stoklasa und Ernest (III, S. 93) und Haselhoff mit den Resultaten meiner Bakterienkulturen auf Feldspat vergleicht, und anderseits die durch Bakterien im Boden (auch im Winter durch die sogenannten „glazialen“ Bakterien M. Müllers (zit. nach Löhnis I, S. 534) und H. J. Conns (S. 427), der die größte Anzahl Bakterien bei — 8° fand und annimmt, daß es auch Bakterien gibt, die sich bei Kälte am besten vermehren) produzierte CO_2-Menge mit der durch Pflanzenwurzeln produzierten (Stoklasa und Ernest II, S. 733, 735) in Vergleich zieht, so gelangt man notgedrungen zu dem Schlusse, daß den Bakterien eine weit bedeutendere Rolle bei der Silikataufschließung im Boden als den anderen biologischen Faktoren zugeschrieben werden muß.

Was noch die Befunde von organischen Säuren in den Wurzelsekreten der Pflanzen seitens Czapek und Kunze anbetrifft, so ist die Bildung dieser Säuren durch Mikroorganismen nicht völlig von der Hand zu weisen. Czapek arbeitete zwar mit sterilisierten Samen (S. 336—338), konnte sogar dann das Doppelte an Ameisensäure (aber nur 0,7 mg!) gegenüber den nichtsterilisierten nachweisen; Kunze hat jedoch auf diese Entstehungsquelle der organischen Säuren überhaupt keine Rücksicht genommen. Die Deutung der Entstehung organischer Säuren an den Wurzeln seitens Stoklasa und Ernest ist allerdings sehr bestechend, immerhin war aber auch bei ihren Versuchen Mikroorganismenwirkung nicht ausgeschlossen. Ich fand stets an den Keimwurzeln und Wurzelhaaren von Helianthus, Lepidium und Cucurbita, deren Samen ich mit 1 ‰ Sublimat sterilisierte, im sterilisierten Wasser abspülte und in sterilisierten Glasdosen keimen ließ, reichlich Bakterien.

Weit weniger ist Mikroorganismentätigkeit bei den Pflanzenkulturen auf pulverisierten Gesteinen in den Versuchen Kunzes, Prianischnikows, Stoklasas und Ernests ausgeschlossen; der Mangel an organischer Substanz in dem Gesteinspulver, wie ihn Stoklasa (III, S. 90) zum Ausschluß von Mikroorganismenwirkung für genügend hält, ist von keiner so großen Bedeutung, da den Bakterien zuerst der auf den Wurzeln auftretende Schleim, hernach die mit der Zeit in größeren Mengen absterbenden Wurzelhaare und ganze Wurzeln genügend Nährmaterial liefert. Künftige Untersuchungen über die Gesteinsaufschließung seitens der Wurzeln müßten, noch mehr als es bisher der Fall war, auf etwaige Mitwirkung von Bakterien Rücksicht nehmen.

Dafür, daß den Bakterien eine bedeutende Rolle bei der Silikataufschließung im Boden zufällt, sprechen auch die bei der Brache gewonnenen Erfahrungen (vergl. Wollny, S. 347, Rümker, S. 62, Droop u. a.).

Die Resultate meiner Versuche lassen sich auf die natürlichen Verhältnisse im Boden gewiß leichter übertragen als diejenigen von Müller und Šicha, die zur Lösung der Mineralien ein unter starkem Druck mit CO_2 gesättigtes Wasser verwendeten.

Die größere Lösung des Feldspats in meinen Bakterienkulturen gegenüber den von Müller und Šicha erhaltenen Resultaten läßt sich wahrscheinlich dadurch erklären, daß nicht nur das bei der Atmung entstehende Kohlendioxyd lösend auf den Feldspat einwirkte, sondern auch daß ein Teil des Gelösten in der Leibessubstanz der Bakterien festgelegt wurde und daß außerdem Umsetzungsvorgänge mit dem Mineral hätten bewirkt werden können (vergl. Versuch II, wo wegen der schnellen Verarbeitung des C_2O_4-Jons das NH_4-Jon frei wurde resp. als $(NH_4)_2CO_3$ auftrat).

Zusammenfassung der Resultate.

1. Qualitativ ist im Darm und in den Exkrementen des Regenwurms dieselbe Bakterienflora vorhanden wie in dem Boden, dem die Regenwürmer entstammen.

2. Im Darm, und besonders in den Exkrementen des Regenwurmes tritt eine starke Vermehrung der Bakterien ein, wodurch die Zersetzungsvorgänge im Boden durch die Regenwürmer sehr begünstigt werden.

3. Der Regenwurm beschleunigt nicht nur mittelbar auch die Zersetzung der Mineralsubstanzen des Bodens, sondern auch unmittelbar durch Zerreiben kleiner Gesteinspartikel in seinem kräftigen Kaumagen und durch Abreibung der bei der Verwitterung an den Gesteinskörnchen entstehenden Kaolinrinden, wodurch neue Flächen der Einwirkung gesteinslösender Agentien ausgesetzt werden.

4. Bakterien vermögen polierten Marmor zu korrodieren und zwischen die Lamellen in Glimmer einzudringen.

5. Dem Feldspat vermögen sie die zu ihrem Wachstum notwendigen Mineralmengen zu entziehen.

6. Vom gepulverten unverwitterten Orthoklas vermögen die Bakterien beträchtliche Mengen in Lösung zu bringen, wobei dem durch sie produzierten Kohlendioxyd die Hauptrolle zufällt.

7. Als ein besonders kräftiger Feldspatzersetzer, wohl infolge seiner großen Atmungsenergie, hat sich Bacillus extorquens n. sp. erwiesen.

Die vorliegende Arbeit wurde im botanischen Institut der Universität Basel (Dir. Prof. Alf. Fischer) ausgeführt.

Die Untersuchungen wurden noch auf andere, bodenkundlich wichtige Mineralien, meist Silikate, ausgedehnt, worüber später ausführlicher berichtet wird.

Literatur-Verzeichnis.

Bachmann, E., I, Die Beziehungen der Kieselflechten zu ihrem Substrat. Berichte d. d. bot. Ges., Bd. XXII, S. 101.

—, II, Die Beziehungen der Kieselflechten zu ihrer Unterlage. Ber. bot. Ges., Bd. XXIX, S. 261.

—, III, Die Rhizoidenzone granitbewohnender Flechten. Jahrb. f. wissensch. Bot., Bd. XLIV, S. 1.

Beijerinck, M. W., I, Über Chinonbildung durch Streptothrix chromogena und Lebensweise dieses Mikroben. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. VI, S. 2.

—, II, Anhäufungsversuche mit Ureumbakterien. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. VII, S. 33.

Bischof, Gustav, Lehrbuch der chemischen und physikalischen Geologie, 3 Bde. Bonn 1863.

Conn, H. J., Bacteria in frozen Soil. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XXVIII, S. 422.

Czapek, Fr., Zur Lehre von den Wurzelausscheidungen. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XXIX, S. 321.

Darwin, Charles, Die Bildung der Ackererde durch die Tätigkeit der Würmer. Stuttgart 1882.

Droop, C., Die Brache. Heidelberg 1900.

Dusserre, C., Über die Einwirkung der Regenwürmer auf die chemische Zusammensetzung des Bodens. Landw. Jahrb. d. Schweiz, Bd. XVI, S. 75.

Fülles, P., Bakteriologische Untersuchungen des Bodens von Freiburg i. Br. Zeitschr. f. Hyg., Bd. X, S. 225.

Fürth, Otto, Vergleichende Physiologie der niederen Tiere. Jena 1903.

Grazia, S. de, e Camiola, G., Su l'intervento dei microorganismi nella utilisazione della potassa leucitica. Ref. Biedermanns Zentralbl. f. Agrikulturchem., Bd. XXXVII, S. 207.

Grazia, S. de, Su l'intervento dei microorganismi nell' utilisazione dei fosfati insolubili del suolo da parte delle piante superiore. Ref. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XXXII, S. 270.

Haselhoff, E., Untersuchungen über die Zersetzung bodenbildender Gesteine. Ref. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XXVII, S. 252.

Haushofer, K., Über die Zersetzung des Granits durch Wasser. Journ. f. prakt. Chemie, Bd. CIII, S. 121.

Hensen, V., Über die Fruchtbarkeit des Erdbodens in ihrer Abhängigkeit von den Leistungen der in der Erdrinde lebenden Würmer. Landwirtsch. Jahrb., Bd. XI, S. 674.

Hiltner, E. und Störmer, K., Studien über die Bakterienflora des Ackerbodens, mit besonderer Berücksichtigung ihres Verhaltens nach einer Behandlung mit Schwefelkohlenstoff und nach Brache. Ref. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XII, S. 126.

Hohl, Über landwirtschaftlich wichtige Bodenbakterien. Landw. Jahrb. d. Schweiz, Bd. XVIII, S. 434.

Jensen, Hj., Beiträge zur Morphologie und Biologie der Denitrifikationsbakterien. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt., Bd. IV, S. 401 und 449.

Koch, A. und Kröber, E., Der Einfluß der Bodenbakterien auf das Löslichwerden der Phosphorsäure aus verschiedenen Phosphaten. Ref. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XVII, S. 570.

Kolkwitz, R., Beiträge zur Kenntnis der Erdbakterien. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. V, S. 670.

Kröber, E., Über das Löslichwerden der Phosphorsäure aus wasserunlöslichen Verbindungen unter Einwirkung von Bakterien. Ref. Zentralbl. f. Bakt., Bd. XXIX, S. 462.

Kunze, G., Über Säureausscheidung bei Wurzeln und Pilzhyphen und ihre Bedeutung. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLII, S. 357.

Lafars Handbuch der techn. Mykologie, III. Bd. Jena 1904—1906.

Lehmann, K. B. und Neumann, Bakteriologische Diagnostik (Lehmanns med. Handatlanten, Bd. X). München 1899.

Löhnis, F., I, Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie. Berlin 1910.

—, II, Ein Beitrag zur Methodik der bakteriolog. Bodenuntersuchung. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XII, S. 448.

Matzuschita, Teisi, Bakteriologische Diagnostik. Jena 1902.

Migula, System der Bakterien, Bd. 2, 1897—1900.

Müller, Jul. Rich., Untersuchungen über die Einwirkung des kohlensäurehaltigen Wassers auf einige Mineralien und Gesteine. Diss. Leipzig 1877.

Müller, P. E., Studien über die natürlichen Humusformen. Berlin 1887.

Muntz, A., Sur la décomposition des roches et la formation de la terre arable. Comp. rend. Paris CX, S. 1370.

Perotti, Renato, Über den biochemischen Kreislauf der Phosphorsäure im Boden. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XXV, S. 409.

Prianischnikow, D., I, Über die Ausnutzung der Phosphorsäure durch höhere Pflanzen. Ber. bot. Ges., Bd. XVIII, S. 411.

—, II, Zur Frage über die Wurzelausscheidungen. Ber. bot. Ges., Bd. XXII, S. 184.

Ramann, E., Bodenkunde. Berlin 1905.

Rümker, K. von, Der Boden und seine Bearbeitung. Berlin 1909.

Sachs, Julius, Handbuch der Experimentalphysiologie der Pflanzen. Leipzig 1865.

Sackett, W. G., Patten, A. J., Brown, Ch. W., The solvent action of soil bacteria upon the insoluble phosphates of raw bone meal and natural raw rock phosphates. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XX, S. 688.

Sestini, F., Kaolisierende Einwirkung der Wurzeln auf die Feldspate im Erdreich. Landw. Vers.-Stat., LIV, S. 147.

Sicha, Fr., Untersuchungen über die Wirkungen des beim hohen Drucke mit Kohlensäure gesättigten Wassers auf einige Mineralien. Diss. Leipzig 1891.

Stoklasa, Jul., I, Über den Einfluß der Bakterien auf die Knochenzersetzung. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. VI, S. 526 und 554.

—, und Ernest, A., II, Über den Ursprung, die Menge und die Bedeutung des CO_2 im Boden. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XIV, S. 723.

—, III, Beiträge zur Lösung der Frage der chemischen Natur des Wurzelsekretes. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XLVI, S. 55.

—, IV, Biochemischer Kreislauf des Phosphat-Jons im Boden. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XXIX, S. 385.

Stålström, A., Beitrag zur Kenntnis der Einwirkung steriler und in Gärung befindlicher organischer Stoffe auf die Löslichkeit der Phosphorsäure des Trikalziumphosphates. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. XI, S. 724.

Wollny, E., Zersetzung der organischen Stoffe und die Humusbildung. Heidelberg 1897.

Über Marssonia- und Hendersonia-Formen.

Von Dr. **Ernst Voges.**

Einleitung.

Die beiden Pilzformen, welche unserer Untersuchung zugrunde liegen und zu der Gruppe der Fungi imperfecti gehören, zeigen in ihrem Verhalten, zumal in ihrer Fruchtlagerbildung und biologischen Anpassung solche eigenartigen, interessanten Züge, daß sie als instruktive Beispiele für die Wertung bestimmter morphogenetischer und systematischer Fragen gelten können, die augenblicklich in der Pilzsystematik zur Diskussion stehen.

Marssonia Potentillae Desm.

Das offene Fruchtlager.

Gegen Mitte Juni erscheinen auf dem Erdbeerblatte unregelmäßig gestaltete und unregelmäßig über die Blattfläche verteilte, blutrote Flecke mit dunkler zentraler Partie, worin schon das bloße Auge schwarze Pünktchen, oft dreißig und mehr, erkennt, die sich unter der Lupe wie halbkugelige Pykniden ausnehmen. Sie treten vorzugsweise auf der oberen, weniger häufig auf der unteren Blattseite auf. Weiterhin geht die blutrote Färbung der Battflecke in eine dunkelbraune über. Wie die mikroskopische Untersuchung ausweist, so haben wir es in den Gebilden jedoch nicht mit echten Pykniden zu tun. Von oben gesehen erkennt man nämlich ein rosettenartiges Konidienlager, das wie in einer Schüssel liegt, welche dadurch entstand, daß die von dem Konidienlager buckelartig emporgehobene Kutikula mit unregelmäßigen Schlitzen platzte und die Kutikulalappen zurückrollten. Man sieht auch wohl, wie der Buckel sich mit einem kreisrunden Riß abhob, so daß die Kutikula als zurückgeschlagener Deckel an einer Stelle des Schalenrandes noch haftet, während aus dem schalenartigen Grunde die Konidien hervorquellen.

Der Blattfleckenpilz, den wir vor uns haben, ist morphologisch scharf charakterisiert. Querschnitte durch den Blattfleck geben das folgende anatomische Bild: Die Masse des Fruchtlagers des Pilzes liegt unter der Kutikula (Fig. 1) sowie in der Epidermis. So zwar, daß die Kutikula an dieser Stelle längs gespalten und ihre äußere Hälfte dach- oder kuppelförmig abgehoben ist, während auf ihrer unteren Hälfte, dem Kutikulaboden, das Pilzstroma sich ausbreitet und dabei die Zellen der Epidermisschicht auseinandergetrieben und deformiert hat. Ebenso ist die Palisadenschicht inter- und intrazellulär von dem Pilzmyzel durchwuchert, wie überhaupt das ganze Blattgewebe im Bereiche des Fruchtlagers. Ja, man findet nicht selten eine solche starke Durchwucherung, daß das Myzel, nachdem es die Dicke des Blattes durchquert und die Epidermisschicht der Unterseite durchbrochen hat und hier wieder zutage getreten, an der gegenüberliegenden Blattfläche ein Fruchtlager bildet. Ein Wachstumsvorgang, der auch sonst wohl vorkommt. So bei Pseudopeziza medicaginis Sacc., einem Blattfleckenpilz der Luzerne und des Klees.

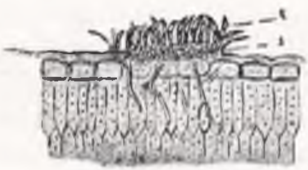


Fig. 1.
Durchschnitt durch das offene Fruchtlager von Marssonia Potentillae. *k* Konidienhymenium; *s* Stroma. Vergr. 200.

Von der im Vergleich zu der Mächtigkeit der Hymeniumschicht nur dünnen paraplektenchymatischen Stromaschicht, die auf der Epidermis liegt, erheben sich die Konidien auf kurzen, verkehrt kegelförmigen Konidienträgern. Die Konidien sind zweizellig, hyalin. Die untere Zelle ist wie der einzellige Konidienträger zylindrisch bis kegelförmig, schwach gebogen und auch wohl im mittleren Teile bauchig erweitert, fast doppelt so lang als der nur kurze Träger. Ganz verschieden von der Basalzelle ist die Endzelle der Konidien. Sie ist größer und sichelförmig und sitzt auf der Basalzelle gleichsam wie ein Schnabel. Im Bereiche des Blattflecks sind die Gewebe abgestorben, Struktur und Inhalt zerstört in der schon oft beschriebenen Weise. Wo das Blatt rot erscheint, da sind es die Palisadenzellen, welche den roten Farbstoff enthalten. Er verschwindet allmählich in Glyzerin, indessen die Zellen gelbbraun werden.

Das geschlossene Fruchtlager.

Eine höchst eigenartige Wandlung geht nun im Laufe des Winters und des Frühjahrs mit dem Myzel und Konidienlager der Marssonia Potentillae in dem verwesenden Blatte vor: das offene Fruchtlager wird

nämlich zum geschlossenen. Es entsteht eine Pyknide (Fig. 2). Das zarte, blasse Myzel des Pilzes in dem lebenden Blatte hat in dem absterbenden eine bernsteingelbe Färbung angenommen; die Membranen der Hyphen sind dick- und derbwandiger geworden. Die Hyphenglieder kugelig angeschwollen oder länglich und eiförmig: das Myzel ist zum Dauermyzel geworden. Und indem die Hyphen symphyogen durch Verfilzung zu einem pseudoparenchymatischen Pilzgewebe sich verbanden, das als dicke, derbwandige, kastanienbraune Hülle das Konidienhymenium umschloß und kugelförmig nach aufwärts sich ausdehnte, entstand eine Pyknide mit unregelmäßiger Öffnung. Da das ganze Blattgewebe von Hyphensträngen stark durchwuchert ist, so stehen diese auch mit der Pyknide in Verbindung, die einem Stroma aufsitzt (Fig. 2). Die Pyknidenwandung ist in ihrem basalen Teile 6 bis 8schichtig; nach dem Scheitel hin wird die Wandung dünner und setzt sich aus 5 bis 6 paraplektenchymatischen Pilzgewebsschichten zusammen. Die Färbung ist im oberen Teile dunkler, als im basalen. Die Pykniden sitzen tief im Blattgewebe, im Palisaden- bezw. im Schwammparenchym. Bei fortschreitendem Wachstum wird die Epidermis gesprengt, so daß sie frei zutage treten und schon mit bloßem Auge erkennbar sind.



Fig. 2.
Durchschnitt durch das geschlossene Fruchtlager (Pyknide) von Marssonia Potentillae. *k* Konidienhymenium; *s* Pyknidenwandung; *o* stromatisches Myzel des Pilzes unterhalb der Pyknide. Vergr. 200.

Der Pilz erscheint somit unter zweierlei Gestalt, so daß man bei ihm von einem Saison-Dimorphismus sprechen kann. Wir sehen ihn in einer Sommerform als Parasit in dem lebenden Erdbeerblatt mit freiliegendem Konidienlager und in einer Winterform als Saprophyt in dem absterbenden Blatte mit geschlossenem Fruchtlager in Gestalt eines Gehäuses.

Einen ähnlichen Dimorphismus finden wir übrigens auch noch bei anderen Pilzen der Gruppe Fungi imperfecti. So erscheint der Blattfleckenpilz Gloeosporium nervisequum (Fuck) Sacc., die Konidienform des Schlauchpilzes Gnomonia veneta (Sacc. et Spg.) Kleb., der ebenfalls ein freies Konidienlager hat, in den abgefallenen Blättern der Platane nach Klebahn[1]) mit einem aus pseudoparenchymatisch verbundenen Hyphen entstandenen braunen Gehäuse, in dessen Innern sich entweder ein einziger Hohlraum befindet, oder es bilden sich Scheidewände aus, indem

[1]) Klebahn, Untersuchungen über einige Fungi imperfecti und die zugehörigen Ascomycetenformen. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 41. 1905. S. 547.

schwärzliche Hyphen in den Hohlraum vordringen und zu Gewebeschichten zusammenschließen mit Konidienträger und Konidien, die vollkommen denen der G. nervisequum gleichen. Und ferner spricht Lagerberg[1]) von der Bildung von Pseudopykniden des Myzels der Pestalozzia Hartigi Tub. in einer Kultur, wonach diese als kleine, solide Körper entstehen, in denen ein innerer Spalt sich allmählich bildet, von dessen Begrenzungsfläche Konidien allseitig hervorgebracht werden. H. Leininger[2]) erhielt sogar bei seinen Züchtungsversuchen mit Pestalozzia palmarum Cooke je nach der Konzentration des Nährmediums neben Pseudopykniden echte Pykniden.

Sodann fand ich in den abgestorbenen Erdbeerblättern, vergesellschaftet mit dem Pyknidenpilz der Marssonia Potentillae eine Pezizinee, eine Beloniella-Form. Ob ein genetischer Zusammenhang zwischen den beiden Pilzen besteht, das konnte ich nicht nachweisen, da die Kulturversuche mit den Askosporen keine einwandfreien Ergebnisse lieferten. Auf sterilisiertem Erdbeerblattstiel ging aus den aufgetragenen Beloniella-Apothezien einmal eine Ramularia hervor. Auf anderen Substraten kam es nicht zur Fruchtbildung.

Keimung der Sporen.

Ist die Konidie durch abwaschende Regengüsse oder im trockenen Zustande durch die bewegte Luft oder durch ab- und zufliegende Insekten, an deren Füßen die Sporen haften bleiben und an der nächsten Anflugstelle wieder abgesetzt werden, oder ist sie durch irgend ein anderes Verbreitungsmittel von ihrer Ursprungsstätte auf die Blattoberfläche einer neuen Wirtspflanze gelangt, dann sucht sie hier festen Fuß zu fassen. Zunächst dadurch, daß die Spore mit ihrer Schleimhülle an der Unterlage haften bleibt; dann dadurch, daß sie einen Keimschlauch treibt. Zahlreiche Konidien keimen freilich nicht auf dem Blatte; andere treiben aus der Spitze der schnabelförmigen Endzelle der Konidie einen Keimschlauch oder von deren Rücken aus, dessen Wachstum indes alsbald sistiert. Dritte wieder keimen, indem die Zellen quellen und an Größe zunehmen. Die Spitze des Schnabels der Konidie wächst zu einem scharf konturierten, viereckigen, stiftartigen Gebilde aus, während die Zellen sich zu traubenförmigen Hyphengliedern umbilden.

---

[1]) Lagerberg, Pestalozzia Hartigi Tubeuf. En ny fiende i våra plantskolor. (Meddel. fr. Stat. Skogsförsök sauss). Nach einem Referat in: Mykolog. Zentralbl. Bd. I. 1912. S. 48.

[2]) H. Leininger, Zur Morphologie und Physiologie der Fortpflanzung von Pestalozzia Palmarum Cooke. Centralbl. f. Bakt. Bd. 29. 1911. S. 3.

Das häufigste Bild der Sporenkeimung (Fig. 3) ist das folgende: Es geht mit der zweizelligen Spore auf der Blattoberfläche eine auffällige Gestaltsveränderung vor. Sie besteht darin, daß ihre Zellen, wie das auch bei den keimenden Konidien anderer Pilze der Fall ist, so bei Septoria, quellen und stark kugelig anschwellen. Gleichzeitig vollzieht sich eine Einschnürung, so daß das ganze Sporengebilde ein traubenförmiges Aussehen annimmt. Der Schnabel der sichelförmigen Endzelle der zweizelligen Konidie wächst zu einem stabförmigen oder stiftförmigen Organ (Fig. 3m) aus, dessen Bedeutung mir bislang unklar ist[1]). Es ragt nach aufwärts frei in die Luft, während die kugeligen Auftreibungen der Konidie gleich schröpfkopfartigen Haftscheiben auf der Blattoberfläche liegen. Aus der sichelförmigen Endzelle der zweizelligen Spore geht der Keimschlauch hervor, der nach kurzem Verlaufe



Fig. 3.

Sporenkeimung und Infektion von Marssonia Potentillae auf dem Erdbeerblatte. *sp* Spore; *m* stiftförmiger Auswuchs des Schnabels der Endzelle der zweizelligen Konidie; *o* Keimschlauch; *n* Appressorium; *z* Epidermiszellen; *i* Infektionshyphe; *a* Eintrittsstelle der Hyphe in die Wirtszelle. Vergr. 500.

mehrfach und dicht nebeneinander kugelig anschwillt, also die gleiche Bildung wiederholt, welche die Zellen der keimenden Konidien vorhin zeigten. Die kugeligen Anschwellungen sind Appressorien. Nach der letzten Auftreibung, deren man oft drei bis vier zählt, nimmt der Keimschlauch sein früheres Kaliber wieder an und kriecht weiter auf der Blattfläche. Dabei gabelt er sich, so daß wir jetzt schon nach Größe und Verlauf von wohlausgebildeten Pilzhyphen auf der freien Blattoberfläche sprechen müssen, von einer Myzelanlage, welche an jene

[1]) Wie sich nachträglich durch Vergleiche mit Sporenkeimungen anderer Askomyceten, so Ophiobolus herpotrichus Fr., herausstellte, ist das fragliche Gebilde ein in die Dauermyzelform übergegangener Keimschlauch.

der Erysipheen erinnert. Die Gabeläste verlaufen dann weiter über die Blattoberfläche, indem sie wiederholt seitliche kugelige Aussackungen als Haftorgane treiben, bis sie schließlich als Infektionshyphe in eine Zelle dringen, gemeiniglich über oder nahe einer Zellwand. Hier durchqueren sie diese in schräger Richtung, um da, wo mehrere Zellen zusammenstoßen, in die Nachbarzelle zu dringen oder längs der ganzen Zellwandung ringsum in der einen Zelle zu verlaufen.

Es ist nun nicht gesagt, daß der Keimungsprozeß der Spore auf der Blattoberfläche allemal in dieser geschilderten Weise verläuft. Es treten hierin die verschiedensten Variationen auf. Die Stiftbildung und die kugeligen Anschwellungen zu Haftscheiben kehren jedoch als typische Bildungen meist wieder. Man sieht auch wohl, daß die schnabelförmige Spitze der Endzelle, nachdem sie eine derbere, dickere Membran angenommen hat, zur Infektionshyphe weiterhin auswächst, während gleichzeitig auch die Basalzelle einen Keimschlauch aus ihrer Endigung getrieben hat, der ebenfalls in die Kutikula und in die Zelle dringt.

Die gekeimte traubig angeschwollene zweizellige Konidie der Marssonia nimmt dann auf der Erdbeerblattoberfläche eine bernsteingelbe Färbung an. Eine Erscheinung, die bei älteren Hyphen der verschiedenartigsten Pilze ja häufig auftritt und in dem sogenannten Dauermyzel am schärfsten ausgeprägt ist. Aus der Tatsache, daß die keimende Spore imstande ist, auf der Blattoberfläche ein verzweigtes Myzel zu bilden, geht nun hervor, daß sie hier Nährstoffe vorfindet, die ihr ein derartiges Wachstum auch außerhalb ihres Nährwirts ermöglichen. Die Nährquelle liefern wahrscheinlich die Mikroorganismen, welche durch die bewegte Luft sowie durch Niederschläge auf die Blattoberfläche gelangen, um hier über kurz oder lang zugrunde zu gehen und der Zersetzung anheimzufallen. Bei diesem Prozesse fallen dann Nährstoffe für den Marssonia-Pilz auf der Blattoberfläche ab.

Konidien-Aussaaten.

Um zu sehen, wie sich der Marssonia-Pilz in der Fruchtlagerbildung auf künstlichen Nährböden verhielt, unternahm ich mit den Sommer- wie Winterkonidien verschiedene Kulturversuche auf Agar-Pflaumendekokt, Gelatine-Pflaumendekokt, Gelatine-Erdbeerfrucht- und Erdbeerblattdekokt sowie auf Gelatine- Kartoffel- und Birnreibsel und ferner auf sterilisierten Erdbeerblattstengeln. Allein, ich erhielt in meinen Kulturen wohl Myzel, aber es kam zu keiner Fruchtbildung. Es erschienen zwar Hyphenbildungen, in denen ein dünner Hyphenzweig sich schraubenförmig um einen dickeren Hyphenstrang wand, oder ge-

wundene Hyphenäste sich wie zur Kopulation dicht aneinander legten oder blasenförmige und rosettenartig aneinanderschließende Aussackungen entstanden, die an Apothezienanlagen erinnerten. Oder es zeigten sich Myzelbildungen, wo die Hyphenzellen interkalar tonnenförmig angeschwollen waren und die dicht aneinanderliegenden Hyphen zapfenartige Auswüchse und Seitenäste getrieben hatten, die sich übereinander legten, oder umeinander schlangen, so daß eine gedärmeartige Verknäuelung entstand. Aber dabei blieb es. In Wasser trieben die Konidien weit schneller Keimschläuche, als in den obigen Nährlösungen. Und zwar ging die Keimung in der Weise vor sich, daß, wie ich[1]) schon früher bei einer anderen Gelegenheit beschrieben habe, gemeiniglich vom Rücken der sichelförmigen Endzelle ein Keimschlauch hervorsproß, der nach kürzerem oder längerem Verlauf gewöhnlich eine runde Haftscheibe bildete, um danach in der vorherigen Weise weiter zu wachsen. Auch die schnabelförmige Spitze der Endzelle wächst zu einer Art Keimschlauch in Gestalt des vorhin erwähnten stiftförmigen Sporenfortsatzes aus. Sporen, bei denen beide Zellen gleichzeitig Keimschläuche getrieben hatten, kamen nur vereinzelt vor.



Fig. 4.
Entwickelung der Konidie von Marssonia Potentillae.
p Paraphyse. Vergr. 700.

Während es mir bisher nicht gelungen ist, für den Marssonia-Pilz einen zusagenden künstlichen Nährboden ausfindig zu machen, auf dem sich seine Entwickelung verfolgen ließ, findet man in den Konidienlagern seines natürlichen Substrats, des Blattes, wohl Entwickelungsstufen der Konidien, die erkennen lassen, wie das Anfangsstadium der Spore als ein schmalblätteriges, schwach sichelförmiges Gebilde aus dem Stroma hervortritt (Fig. 4), das sich alsdann im oberen Teile verbreitert, worauf darin zwei Scheidewände erscheinen und der Hyphensprößling zum einzelligen Konidienträger mit der zweizelligen Konidie auswächst. Ebenso gewahrt man auch wohl hin und wieder, daß neben den Konidienträgern

---

[1]) E. Voges, Pathologische Pilzbildungen. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XXI. 1911. S. 210.

ein schmales, bandförmiges Filament als Paraphysenbildung im Hymenium der Pyknide auftaucht.

Das Fruchtlager von Hendersonia-Arten.

Wie hier Marssonia Potentillae und Gloeosporium nervisequum, ein ähnliches Verhalten zeigen Hendersonia-Formen hinsichtlich der Fruchtlagerbildung. So hat Hendersonia piricola Sacc. auf Birnblättern ein offenes Fruchtlager. Es macht allerdings, mit bloßem Auge oder unter der Lupe betrachtet, den Eindruck, als hätte man eine regelrechte Pyknide vor sich. Aus der gesprengten Epidermis treten nämlich an die freie Blattoberfläche unregelmäßig kegelförmig gestaltete dunkele Fruchtlager mit einer terminalen Spaltöffnung hervor, die auf den ersten Blick als geschlossene Fruchtlager erscheinen und die denn auch in der Systematik fälschlich als Pykniden gelten. Tatsächlich haben wir es jedoch nicht mit echten Pykniden zu tun, sondern mit offenen Fruchtlagern, die allerdings dadurch ein pyknidenartiges Aussehen annehmen, daß die Sporenmasse in einem kraterförmigen Haufen zusammengeballt ist. Diese Anordnung und Lagerung der Sporen ist charakteristisch für Hendersonia. Es ist das ein eigenartiger Wachstumsvorgang des Pilzes. Wie man in den Kulturen auf künstlichen Nährböden erkennt, so erscheinen an einer Stelle des kräftig wachsenden und ausgebreiteten Myzels zuerst einzelne Konidien, zu denen sich dann weitere gesellen, so daß alsbald ein Konidienhäufchen auf dem Myzel lagert, bis schließlich bei der fortschreitenden Sporenproduzierung und Auflagerung der kleine Konidienkrater entstanden ist.

Während unser Blattfleckenpilz nun im Blattgewebe kein geschlossenes Fruchtlager bildet — mir ist wenigstens bisher keine Form bekannt geworden — tritt ein naher Artgenosse, beschrieben unter dem Namen Hendersonia sarmentorum W. im Rindengewebe abgestorbener Achsenorgane, so bei Hedera Helix L., Ribes rubrum L. und Lonicera caprifolium L. mit einer Pyknide auf[1]). Das ist jedoch durchweg

[1]) Die in Rabenhorst-Allescher, Kryptogamenflora VII, 1903, S. 191 als Forma Hederae der Hendersonia sarmentorum aufgeführte Form ist gegenüber den im Rindengewebe des Geisblattes, des Johannisbeerzweiges und der Himbeerruten vorkommenden Formen so abweichend gestaltet, daß sie als besondere Art, wenn nicht Gattung von ihnen abgetrennt werden muß. Bei der Hederae-Form ist der Konidienträger kegelförmig, mehrfach eingeschnürt und bauchig erweitert, sowie zweizellig; bei den anderen Hendersonia-Formen ist der Konidienträger stabförmig und einzellig. Die Konidien der Hederae-Form sind ungleichartig, es besteht ein Pleomorphismus bei ihnen; die Konidien der anderen Formen sind gleichartig; es besteht kein Pleomorphismus. Vgl. E. Voges, Über die Pilzgattung Hendersonia Berk., Bot. Ztg. 68. Jahrg. 1910. S. 87.

auch nicht der Fall. In der Rinde abgestorbener Himbeerruten fand ich im März Hendersonia-Fruchtlager in der gleichen Ausgestaltung wie bei H. piricola. Überhaupt hatte die Rubus-Hendersonia die größte Ähnlichkeit mit H. piricola. Das Hymenium bestand wie bei der letzten Form aus je von einer Konidie gekrönten aufrechten, unverzweigten Konidienträgern und aus fadenförmigen Paraphysen, welche die Konidien überragten. Die tonnenförmigen, vier- bis sechszelligen, typisch indes vierzelligen, an beiden Enden kegelförmig auslaufenden Konidien waren im Jugendzustande hell strohgelb, im ausgereiften bernsteingelb mit dunkelfarbigen Zellmembranen. Der stabförmige, unseptierte Konidienträger hyalin wie die Paraphysen. In den Kulturen auf künstlichen Nährböden wie Agar und Pflaumendekokt, die ich im März und April ansetzte, zeigte der Hendersonia-Pilz ein üppiges Wachstum und bildete die vorhin beschriebenen kraterförmigen Fruchtlager in großer Zahl. Die Sporen wurden auf dem künstlichen Nährboden weit größer, als auf dem natürlichen Substrat. Ihre Gestalt war meist lang birnförmig, an den Enden kegelförmig zulaufend, im ausgebildeten Zustande vier- und mehrzellig. An dem Myzel entstanden im üppigen Wuchs sowohl Konidienträger und Konidien in allen Entwickelungsstadien, erst unseptiert und hyalin, dann mit zunehmender Septenzahl und Gelbfärbung. Die Paraphysen erschienen an den Hyphen in zweierlei, jedoch nicht scharf geschiedenen Formen als knorrige, verzweigte Hyphenäste und pfriemenbis fadenförmige Hyphenaustreibungen. Vereinzelt sah man auch vierzinkige Hyphenäste, wovon der eine Ast eine Konidie trug.

Die systematische Bedeutung der Pyknide.

Schon Bauke[1]) bemerkt, daß die Verbreitung der Pykniden bei den Askomyceten eine sehr unregelmäßige zu sein scheine und inwieweit dieselben für die Systematik der Askomyceten von Wichtigkeit sind, müsse Spezialforschungen überlassen bleiben, wobei der bislang von den Systematikern vernachlässigte Unterschied zwischen echten Pykniden und stromatischen Konidienlagern streng zu berücksichtigen sei. Und gegen die Definition Tulasnes, welcher den Unterschied zwischen Stylosporen oder Pyknosporen und Konidien darin findet, daß erstere in Höhlungen, letztere frei auf einem Stroma oder an einem Myzel entstehen, wendet Bauke mit Recht ein, daß die Stromata meist eine sehr

---

[1]) Bauke, Beiträge zur Kenntnis der Pykniden I. Verhandlg. der Kaiserl. Leopoldinisch-Carolinisch Deutschen Akademie der Naturf. Bd. 38. Dresden 1876. S. 489.

unregelmäßige Oberfläche mit Vertiefungen und auch mit Höhlenbildungen besäßen, worin die Konidien entständen, die aber doch stets echte Konidien vorstellen und nicht, weil sie in stromatischen Höhlungen entstehen, zu den Stylosporen gerechnet werden dürfen. Anders, wenn ein selbständiger Behälter vorhanden sei mit ein oder mehreren Höhlungen.

Gegen die obige Forderung ist nun in der Systematik derart verstoßen, daß alle Fruchtlager, die bei einer oberflächlichen Betrachtung ein pyknidenartiges Aussehen haben, als Pykniden gelten: sowohl Gehäuse einzig nur aus einem Pilzgeflecht, wie Gehäuse aus Pilzgeflecht plus Substrat und gehäuseartigen Oberflächenbildungen nur aus dem Substrat. Und auf diese unter sich so heterogenen Merkmale hin ist eine der beiden großen Abteilungen der Fungi imperfecti, die Gruppe der Sphaeropsidales, aufgebaut! Aber auch selbst, wenn korrekter und nach gleichwertigem Merkmal in der systematischen Gruppierung der Pilzformen der Fungi imperfecti verfahren wird und die Pyknide in genetisch-anatomischem Sinne als Einteilungsprinzip gilt, so würde man, dies Prinzip bei der Aufstellung und Auseinanderhaltung der Pilzformen zugrunde gelegt, dennoch zu systematischen Widersinnigkeiten gelangen und nahe Verwandte oder gar Artgenossen in ihrer natürlichen Zusammengehörigkeit auseinanderreißen. Denn die Pyknide kann nicht als systematisches Kriterium gelten. Sie ist kein spezifisches Art- oder Gattungsmerkmal, worin der Verwandtschaftsgrad zum Ausdruck kommt. Wie Klebahn[1]) bereits bemerkt, so sei dem Vorhandensein oder Fehlen eines Gehäuses um die Konidienlager in bezug auf die natürliche Verwandtschaft unter Umständen wenig Wert beizulegen, wenigstens nicht so viel, wie es das Saccardosche System tut. Es hat Klebahn[2]) gezeigt, daß die Konidien von Gnomonia veneta auf vier verschiedene Weisen entstehen können, nämlich ganz frei an Hyphen, so allerdings nur in Reinkulturen, zweitens zu Lagern ohne Gehäuse vereinigt, so auf den Blättern als Gloeosporium nervisequum und G. Platani, drittens in Lagern mit wenig ausgeprägtem Gehäuse, so als Myxosporium valsoideum oder Discula Platani in der Rinde der Zweige und viertens in einem unverkennbar schwarzen, mitunter mehrkammerigen Gehäuse, so als Sporonema Platani oder Fusicoccum veronense auf toten Blättern.

---

[1]) Klebahn, Zeitschr. f. Pflzkrankh. Jahrg. 1908. S. 147.

[2]) Klebahn, Untersuchungen über einige Fungi imperfecti usw. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. 41. 1905. S. 558.

Und wie wir vorhin sahen, so erscheint Marssonia Potentillae, also ein und derselbe Pilz, einmal unter einer Gestalt mit offenem Konidienlager, das andere Mal unter der Gestalt mit geschlossenem Konidienlager als Pyknide. Der Pilz in der ersten Gestaltung wäre also eine Melanconiales-Form und der Pilz in der Pyknidengestalt eine Sphaeropsidales-Form. Tatsächlich aber haben wir es in beiden Fällen mit einem und demselben Pilze zu tun. Und bei den Hendersonia-Arten müßten nach dem Saccardoschen Systeme die einen zu den Melanconiales, die anderen zu den Sphaeropsidales gestellt werden, in verschiedene Ordnungen, obwohl es Artgenossen sind. So würden nahe verwandte Formen auf ein Merkmal hin, nur weil die eine oder andere Form eine Pyknide bildet, künstlich getrennt im System, während dieses doch gerade die natürliche Verwandtschaft zum Ausdruck bringen soll!

Aber, so wird man fragen, welche Merkmale hätten denn für die Klassifikation der Fungi imperfecti maßgebend zu sein, wenn nicht ein so charakteristisches Kennzeichen, wie es die Pyknide doch ist? Eine einzelne Eigenschaft des Organismus, mag sie auch noch so auffällig vor allen anderen hervortreten, kann nicht für dessen Stellung im System bestimmend sein. Nur die Summe jener Eigenschaften, woraus sich eben die Wesenheit der Art und des Individuums zusammensetzt in ihrer Totalität, der Gesamthabitus der jeweiligen Pilzform ist maßgebend für die Einreihung im System.

Es ist nun neuerdings von A. Potebnia[1]) und vornehmlich von v. Höhnel[2]) die Fruchtlagerbildung, insonderheit die Pyknidenausbildung als Einteilungsprinzip für die Gruppe der Fungi imperfecti verwandt worden. Wie indes v. Höhnel selbst sagt, kann das Gebotene vorläufig nur als ein Versuch gelten. — Wenn auch in die Pilzrumpelkammer der Fungi imperfecti nur schwer eine genealogische Ordnung zu bringen ist, da wir es ja nicht mit ausgebildeten Pilzformen, sondern meist mit Entwicklungsstadien zu tun haben, so ist doch jeder Versuch zu begrüßen, der eine Verbesserung des Saccardoschen Systems bedeutet. Aber über die Grundprinzipien der Klassifikation und über die morphogenetische Wertung der systematischen Charaktere sollte man sich verständigen. So vor allem über den Charakter der Pyknide. Haben wir es bisher in der Systematik, wie wir vorhin sahen, in der Pyknide nicht mit einem ein-

---

[1]) Potebnia, Beiträge zur Micromycetenflora Mittel-Rußlands. Annal. mycol. 1910. S. 58. — Ein neuer Krebserreger des Apfelbaumes usw. Z. f. Pflk. 1912. S. 140.

[2]) v. Höhnel, Zur Systematik der Sphaeropsideen und Melanconieen. Ann. mycol. 1911. S. 258.

heitlichen morphologischen Gebilde zu tun, so heißt es doch in das entgegengesetzte Extrem verfallen, wenn A. Potebnia der Septoriagattung die echte Pyknide abspricht. Zu seiner Gruppe der Pseudopycnidiales, welche „freie Konidienlager mit erhabenem Rande" haben und deren meist zartwandige Fruchtkörper aus einem Gewebe von Hyphen bestehe, „welches den Hohlraum, der in dem Blattgewebe durch die zerstörende Tätigkeit des Pilzes entstanden ist, umgibt", stellt Potebnia die Gattung Septoria, zumal S. nigerrima Fuck. = S. piricola Desm. Tatsächlich aber haben die Septoriaformen, vor allem S. Apii Br. et Car. wohlentwickelte echte Pykniden. Wenn bei S. piricola auch die Pyknidenwandung lockergewebig ist, so treffen doch auf diese Form alle Gattungskriterien zu, wie die selbständige Gehäusebildung des Myzels auf dem natürlichen wie dem künstlichen Substrat in der Kultur in Gestalt einer kugeligen bis kreiselförmigen Pyknide mit terminaler Porusmündung, para- oder prosoplectenchymatischem Hyphengewebe und Konidienhymenium mit kleinen, kurzen, kegelartigen oder flaschenförmigen Konidienträgern und langen stab- oder fadenförmigen, gekrümmten mehrzelligen Pyknosporen. Wenn Potebnia ferner sagt, daß bei S. piricola „das Gehäuse nicht wie bei den echten Pykniden aus pseudoparenchymatischem (paraplectenchymatischem) Gewebe bestehe, sondern nur aus miteinander verflochtenen Hyphen (einem Prosoplectenchym) bestehe, so kann eine paraplectenchymatische Hyphenverflechtung als bezeichnend für die echte Pyknidenbildung nicht gut gelten, da einmal keine erkennbaren Grenzen zwischen para- und prosoplectenchymatischem Gewebe bestehen und zum anderen in ein und derselben Pyknide zumeist beide Arten der Hyphenverflechtung vorkommen. Ebensowenig ist die Hyphenauskleidung des Hohlraums, der „durch die zerstörende Tätigkeit des Pilzes entstanden ist", ein Charakteristikum für die „Pseudopyknide", da ja auch die echten Pykniden solche Hohlräume im Blattgewebe auskleiden.

Zu den echten Pyknidales, den „Formen mit symphyogen oder meristogen entstandenen Pykniden" zählt Potebnia auch die Gattung Hendersonia. Allein, H. piricola Sacc. auf Birnblättern und eine dieser gleichende Hendersonia-Form auf Rosenblättern sowie H. sarmentorum West. auf abgestorbenen Himbeerstengeln und noch andere Formen haben jedoch gar keine Pykniden, obwohl sie sonst alle Gattungscharaktere der Hendersonia besitzen. Sie sind also eher echte Melanconiales. Andererseits stellt Potebnia neben Septoria die Gattung Vermicularia zu seinen Pseudopyknidales, während beispielsweise die weitverbreitete V. trichella Fr., auf den Epheublättern eine ausgesprochene Melanconiee ist.

An diesen wenigen Beispielen zeigt sich schon, welche Kontroversen die Klassifikation der Fungi imperfecti mit sich bringt. Jedenfalls aber wären als Pseudopykniden nur jene gehäuseartigen Bildungen zu bezeichnen, die nicht als selbständige, symphyogen oder meristogen entstandene para- oder prosoplectenchymatische Gehäusebildungen des Myzels sich ausweisen.

Indem v. Höhnel[1]) den Begriff der Pyknide mit Recht weiter und zutreffender, als Potebnia faßt, versteht er unter Pycnidiaceae alle jene Formen, „die mehr minder typische Pykniden besitzen, deren Konidienträger nicht auf die Basis derselben beschränkt sind“. Und zu den Pseudosphaerioideae, seiner Unterabteilung der Melanconiaceae, rechnet er die Formen mit pyknidenähnlichen Fruchtkörpern, aber ohne deutliche eigene Wandung.

Die biologische Bedeutung der Pyknide.

Über das Wesen der Pyknide äußert Bauke: Obgleich die Pykniden in ihrer Eigenschaft als ungeschlechtliche Fortpflanzungsorgane von Askomyceten neben die Konidien zu stellen sind, so sind sie doch von letzteren in Hinsicht auf die Entwickelungsgeschichte prinzipiell verschieden. Während die Konidien entweder direkt an freien Myzelfäden abgeschnürt werden, oder an stromatischen Lagern von unregelmäßig schwankender Form ihren Ursprung nehmen, erweisen sich dagegen die Pykniden von Anfang an als deutlich individualisierte Gebilde.

Gegenüber dieser Auffassung, daß die Pykniden als ungeschlechtliche Fortpflanzungsorgane hinsichtlich ihrer Entwickelung prinzipiell von den Konidien verschieden und individualisierte Bildungen seien, ist geltend zu machen, daß nicht Pyknide und Konidie die Vergleichungsobjekte sind, sondern das offene und das geschlossene Fruchtlager bezw. Hymenium der bezüglichen Pilze. Und aus dieser vergleichend anatomischen Betrachtungsweise ergibt sich, daß die Konidien im offenen und die Stylosporen oder Pyknosporen im geschlossenen Fruchtlager gleichwertige Bildungen sind als ungeschlechtliche Fortpflanzungskörper. Die Pyknide aber ist nichts weiter als eine besondere Ausgestaltung des Stroma in Form eines Gehäuses, das schützend das Hymenium umgibt.

Wie das Myzel der Pilze zu einer bestimmten Zeit derbwandiger und gelbfarbig wird, wie es zur Bildung von Chlamydosporen und Dauer-

[1]) v. Höhnel, a. a. O. S. 260.

myzel kommt, so vermag auch der Pilzorganismus, wie wir das bei Marssonia Potentillae sahen, unter gewissen Umständen von einem offenen zu einem geschlossenen Fruchtlager überzugehen und eine Pyknide zu bilden. Schon aus dieser Tatsache, daß ein und derselbe Pilz eine solche Wandlung mit seinem Fruchtstand vornehmen kann, ergibt sich, daß die Pyknide nicht den spezifisch morphogenetischen Wert als Fortpflanzungskörper hat, den ihr Bauke beilegt.

Dieselbe Schutzhüllenbedeutung wie die Pyknide für das Konidienhymenium hat das Perithecium für die Askusfruchtschicht. Und da ist es denn interessant, wie beiderlei Schutzgehäuse die gleichen Gestaltsbildungen aufweisen. So haben Pykniden wie Perithecien auf ihrer äußeren Wandoberfläche gleich gestaltete Borstenbildungen und an der inneren Gehäusewandung ähnliche Paraphysen. Ebenso sind die Mündungen der beiden Gehäusearten oft ganz gleichartig gebaut, was sich selbst auf einen röhrenförmig ausgezogenen Halsteil erstreckt, der bei den Perithecien der Gnomoniaceen und den Pykniden der Sphaeronema-Arten beinah die gleiche Gestaltung hat.

Wenn indes Bauke[1]) aus dem Umstande, daß die Pykniden sich bis zu dem Beginn der Stylosporenbildung wesentlich in gleicher Weise entwickeln wie die Perithecien, eine genetische Verwandtschaft zwischen den beiden Fruktifikationsformen ableiten möchte und mit Pringsheim in den Pykniden die neutrale Fruchtform der Askomyceten erblickt, indem er Pykniden und Perithecien als Wechselgeneration betrachtet, so ist das insofern auch nicht ganz zutreffend, als hierbei nicht die Pyknide und das Perithecium, diese Gehäusebildungen, das Wesentliche bei dem Generationswechsel sind. sondern allgemein die Konidienform und die Askusform. Sie sind es, die im Entwickelungszyklus der Askomyceten, einerlei, ob in dem Kreislauf des Pilzes eine Pyknide gebildet wird oder nicht, die Wechselgeneration abgeben als ungeschlechtliche und geschlechtliche Generationsfolge.

Schlußbetrachtungen.

Aus unseren bisherigen Darlegungen erhellt, daß entgegen den früheren Anschauungen die Pyknide als Fruchtform der Askomyceten nicht die Rolle spielt, die man ihr in systematischer und in morphogenetischer Beziehung zugewiesen hat. In erster Linie hat sie eine

[1]) Bauke, Zur Entwickelungsgeschichte der Ascomyceten. Botan. Zeitung. 35. Jahrg. 1877. S. 313 ff.

biologische Bedeutung, wie das auch schon anderweitig mehrfach ausgesprochen wurde. Sie stellt wie das Perithecium im Leben der Askomycetenpilze ein der veränderten Lebensweise zugrunde liegendes Anpassungsgebilde dar, insonderheit eine Schutzgewebsbildung für die Generationsorgane. Eine Dauerform, welche dem wechselnden Verhalten der Wirtspflanze insofern Rechnung trägt, als deren Pilzbewohner nicht mit dem Absterben des Wirts, den er unter einer anderen gestaltlichen Ausbildung und Organisation heimsuchte, nun ebenfalls zugrunde geht, sondern, führte er bis dahin wie unsere Marssonia in dem lebenden Blattgewebe eine parasitische Lebensweise, nunmehr in dem abgestorbenen Blatte zur saprophytischen übergeht, die sodann für die Perithecienform typisch ist. So stehen denn vielfach die Dauermyzel- sowie Schutzhüllenbildung und die saprophytische Lebensweise in einer gewissen Wechselbeziehung wie die freie Fruchtlagerbildung und die parasitäre Lebensweise. Allerdings ist damit nicht gesagt, daß der Pyknidenpilz allemal gleichbedeutend mit Saprophyt sei. Wir zählen vielmehr Pyknidenpilze zu unseren ausgesprochensten Parasiten, so beispielsweise Septoria- und Phyllostictaformen, die alsdann wie Marssonia zugleich Parasit und Saprophyt sind. Es tritt dabei nun die interessante Erscheinung hervor, daß Pilzformen, welchen das Perithecienstadium abgeht, in der Pyknidenform in dem abgestorbenen Nährwirt überwintern, während bei Pilzformen mit Pykniden- und mit Perithecium-stadium das erstere im Laufe des Winters meist wohl zugrunde geht und das Askusstadium die Erhaltung der Art übernimmt. So ist es, abgesehen von Marssonia Potentillae, bei Septoria Apii Br. et Cav. und Septoria nigerrima Sacc. und, worauf Potebnia aufmerksam macht, bei Septoria Cholidonium. Der Pyknidenpilz S. Apii auf der Selleriepflanze entbehrt der Askusform. Wenigstens ist es Klebahn nicht und ebensowenig mir gelungen, ihn ausfindig zu machen. Der Pilz überwintert nun auf den abgestorbenen Blättern und seine Pyknosporen sind im Frühjahr keimungsfähig, was bereits Klebahn[1]) nachgewiesen hat und ich bestätigen kann.

So erscheint denn ein Dauerzustand des Pilzes unter den ungleichen Gestaltungen des Myzels als Stroma, Sklerotium, Pyknide und Perithecium. Sie sind Hyphengebilde, welche in biologischer Hinsicht ein und demselben Zwecke dienen: dem Pilze in seinen verschiedenen Lebensabschnitten, während der Ruhe- und während der Vegetationszeit eine

[1]) Klebahn, Krankheiten des Selleries. Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XX. 1910. S. 13.

Schutzlager- und Entwickelungsstätte zu bieten. Und diesen Aufgaben entsprechend wechselt das Stroma seine Struktur und Funktion. So tritt es bei Marssonia Potentillae einmal als zartwandiges, blasses Hyphengeflecht mit einer offen liegenden Fruchtschicht auf, das andere Mal im Ruhe- und Dauerzustand des Pilzes als derbwandiges, gelbfarbiges geschlossenes Fruchtlager unter der Gestalt der Pyknide. Und ähnlich ist es bei unserer Hendersonia-Form in der Rinde der abgestorbenen Himbeerachse, wie sich das in der Kultur zeigte. Während, wie vorhin geschildert, anfangs in den Hendersonia-Kulturen die blaßfarbigen Konidien und Paraphysen frei an den Hyphen des locker verflochtenen Myzels entstanden, vereinigt in kleineren oder größeren Fruchthäufchen, so erscheinen späterhin, nach einigen Wochen in der Oberschicht des Substrats große kugelförmige und pyknidenähnliche gelbfarbige Fruchtkörper aus dicht verflochtenen Hyphen, so daß schließlich zweierlei Fruchtkörper in der Kultur vorkommen: die schwarzen kraterförmigen Sporenhaufen und jene gelben Fruchtkörper pyknidenähnlichen Charakters. Sie bestehen, wie senkrechte Durchschnitte lehrten, aus einer kompakten, dicht verfilzten Myzelmasse. Eine schmale Randzone besteht aus großkaliberigen und dunkeler gefärbten Hyphen. Eine gleiche, aber breitere ringförmige Pilzgewebszone liegt im zentralen Teile des Fruchtkörpers. Von ihr gehen nach der Peripherie strahlenförmig Hyphenstränge mit vereinzelten und unregelmäßig verteilten Konidien aus. Der Aufbau dieser Pilzgewebskörper wird uns klarer, wenn wir deren erste Anfänge auf dem Substrate verfolgen. Da zeigt sich denn, daß in dem locker verflochtenen Myzel an irgend einer Stelle, wo an den Hyphen eine Anzahl Konidienträger mit Konidien entstanden sind, eine stärkere Verfilzung der Hyphen unter gleichzeitiger Zunahme der Konidienbildung vor sich geht. Die Konidien liegen, um ein Bild zu gebrauchen, an solchen Stellen wie ein Bündel zusammengeraffter Ähren. Indem alsdann das Hyphenwachstum und die Verfilzung fortschreiten, wobei zugleich eine Schleimbildung sich geltend macht, entsteht schließlich der pyknidenähnliche Fruchtkörper, der sich von dem kegelförmigen schwarzen Konidienlager der Hendersonia nur dadurch unterscheidet, daß bei ihm das vegetative Wachstum das fruktifikative überholte, so daß seine Masse vorzugsweise aus dicht verflochtenen Hyphen, von Konidien durchsetzt, besteht, während bei den schwarzfarbigen Fruchtkörpern es umgekehrt ist und die Hauptmasse aus Sporen besteht. Jedenfalls sind es eigentümliche Stromabildungen, deren Schicksal ich noch weiter verfolgen werde in den im März angesetzten Kulturen.

Wie das ausgebildete pseudoparenchymatische Pilzgewebe des Perithecium und der Pyknide einander gleicht, so ist auch die erste Anlage dieser Fruchtkörper fast gleichartig in der Hyphenverflechtung meristogener oder symphyogener Art zu einem Gewebekörper, worauf schon Bauke[1]) hinweist. Und eigentümlich ist dabei die Erscheinung, daß selbst da, wo der Pilz unter natürlichen Verhältnissen keine Pyknide bildet, in den Kulturen auf künstlichen Nährböden, so bei Hendersonia piricola, die in der Natur ein offenes Konidienlager besitzt, gewisse Hyphenbildungen erscheinen, die man als die ersten Stadien der Pyknidenbildung ansprechen muß. Ebenso bei H. sarmentorum auf der Himbeerrute. Die Pyknidenanlage ging in der Weise vor sich, daß bei einer oder bei mehreren, alsdann dicht aneinanderlagernden großkaliberigen Hyphen interkalar mehrere Zellen kugelig oder tonnenförmig anschwollen. Dasselbe vollzog sich an den Zellen der aus jenen tonnenförmigen Gliedern hervorgegangenen kleinkaliberigen Hyphenzweigen, so daß es zur Bildung eines traubigen Gewebekörpers kam. Oder es bildete eine große Hyphe eine Schlinge, deren Windungen die traubigen Anschwellungen hatten. Und aus den kugeligen Gliedern der eingerollten Hyphe entsprangen ebenfalls kleinkaliberige Hyphenzweige, welche die große Hyphe umschlangen, so daß eine Verknäuelung entstand. Indem sich ferner mehrere Hyphen mit ihrem kugeligen Zellenstück nebeneinander legten und durch den Druck gegenseitig abplatteten, wurden die Zellen polyedrisch und es entstand so ein pseudoparenchymatisches Gewebe. Aber eine echte Pyknide kam nicht zustande. Es blieb bei den Verknäuelungen. Oder man sieht die vorhin beschriebenen großen gelben Fruchtkörper entstehen. Eine meristogene Entstehungsweise der Pyknidenanlage in den Kulturen der Hendersonia-Pilze durch allmähliche Teilung von Zellen eines interkalaren Hyphenstücks nach allen Richtungen und Wachstum sowie Differenzierung habe ich nicht beobachtet.

Die Schlingenbildung und Einrollung der Hyphen als ein erstes Stadium der Pyknidenbildung kommt bei den Askomyceten-Pilzen in weiter Verbreitung vor. So bemerkt auch Bauke[2]) über die Pyknidenanlage von Leptosphaeria doliolum: „In einer durch mehrfache Einrollung eines Myzelfadens entstandenen Schlinge erblickt man einen parenchymatischen Zellkörper: die junge Anlage einer Pyknide.

---

[1]) Bauke, Bot. Ztg. 1877. S. 313 ff.

[2]) Bauke, Verhandlg. d. Kaiserl. Leopoldinisch-Carolinisch. Deutschen Akademie der Naturf. 1876.

Wir sehen also bei den verschiedenen Fruchtkörperbildungen wie Perithecium, Pyknide und den Fruchtlagern bestimmter Hendersonia-Formen, daß ihre ersten Anlagen in den meristogenen oder symphyogenen Hyphenbildungen gleichartig sind. Weiterhin tritt dann in dem einen Falle ein Stillstand in der Entwickelung ein. Ein pseudoparenchymatischer Pilzgewebskörper ist zwar entstanden, aber auf diesem Stadium verharrt der Pilzorganismus, der auf seinem natürlichen Substrate ein offenes Fruchtlager bildet. In dem anderen Falle schreitet die Differenzierung der gleichartigen Anlage wie jene weiter fort: es entsteht als echte Pyknide ein von dem Konidienhymenium ausgekleidetes Gehäuse. Und geht die Differenzierung noch weiter unter komplizierten sexuellen Vorgängen, so entwickelt sich aus dem Myzel als Perithecium ein Gehäuse, ausgekleidet mit der Askusfruchtschicht.

Worauf die merkwürdige Erscheinung zurückzuführen ist, daß bei den einen Pilzen die Pyknidenanlagen im unentwickelten Zustande verharren, eine Weiterdifferenzierung unterbleibt, dafür kämen vielleicht phylogenetische Gesichtspunkte in Frage, die uns jedoch zu gewagten Spekulationen führen würden.

Die Zersetzung von Harnstoff, Harnsäure, Hippursäure und Glykokoll durch Schimmelpilze.

2. Mitteilung.

Von **Alexander Kossowicz.**

In einer früheren Arbeit[1]) wurde nachgewiesen, daß von zehn daraufhin geprüften Pilzen alle zehn imstande waren Harnstoff und Harnsäure unter Ammoniakbildung zu assimilieren, neun zur Assimilation von Glykokoll unter Ammoniakbildung befähigt waren, nur sechs die Hippursäure assimilieren und unter Ammoniakbildung zersetzen konnten; Cladosporium herbarum zeigte nach längerer Versuchsdauer keine befriedigende Entwicklung in den damals verwendeten glykokollhaltigen Nährlösungen, Pencillium crustaceum, Penicillium brevicaule, Aspergillus glaucus und Cladosporium herbarum in den hippursäurehaltigen Nährlösungen.

Es schien nun von Interesse, zu untersuchen, ob bei entsprechender Vorzucht und wesentlicher Änderung der Ernährungsbedingungen nicht auch diese Pilze zur Assimilation von Glykokoll und Hippursäure herangezogen werden könnten. Allerdings hatte Cladosporium herbarum schon in meinen Versuchen[2]), die sich auf die enzymatische Spaltung von Harnsäure und Hippursäure bezogen, ein gegenüber den anderen Pilzen recht abweichendes Verhalten zur Hippursäure gezeigt.

Es wurden die vier unten genannten Pilze zunächst in einer Nährlösung herangezüchtet, die auf 1000 ccm destilliertes Wasser, 20 g Dextrose, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, 4 g Harnstoff, 1 g Hippursäure und 1 g Glykokoll enthielt, und nachdem die Zuchten gut entwickelt waren (Versuchsdauer acht Tage, Temperatur 20° C) in eine glykokollhaltige

[1]) Alexander Kossowicz, diese Zeitschrift, Bd. 1, 1912, S. 60.

[2]) Alexander Kossowicz, diese Zeitschrift, Bd. 1, 1912, S. 121 und S. 316.

Mannitnährlösung und in eine glykokollhaltige Dextrosenährlösung, ferner in eine hippursäurehaltige Mannitlösung und in eine hippursäurehaltige Dextrosenährlösung eingeimpft, wobei ein sehr kleines Stück des Myzels samt den Sporen (Konidien) übertragen wurde. Die Nährlösungen hatten die folgende Zusammensetzung:

1. Glykokoll-Mannit-Nährlösung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 2 g Glykokoll, 10 g Mannit, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$.

2. Glykokoll-Dextrose-Nährlösung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 2 g Glykokoll, 10 g Dextrose, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$.

3. Hippursäure-Mannit-Nährlösung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 2 g Hippursäure, 10 g Mannit, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$.

4. Hippursäure-Dextrose-Nährlösung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 2 g Hippursäure, 10 g Dextrose, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$.

In diesen Nährlösungen kamen alle vier Pilze (Penic. crustaceum, Pen. brevicaule, Aspergillus glaucus und Cladosporium herbarum) innerhalb acht Tagen bei einer Versuchstemperatur von 20° C zu einer guten Entwicklung, die nur bei Cladosporium herbarum in den beiden Hippursäure-Nährlösungen eine schwächere war. Im allgemeinen war auch die Entwicklung der Pilze in den Dextrose-Nährlösungen eine weit bessere als in den Mannit-Nährlösungen. Auch diese vier Pilze waren also imstande Hippursäure und Glykokoll als Stickstoffquelle zu verwenden. Bei Penicillium crustaceum, Penicillium brevicaule und Aspergillus glaucus konnte deutliche kräftige Ammoniakbildung in allen glykokoll- und hippursäurehaltigen Nährlösungen nachgewiesen werden, während Cladosporium herbarum nur in den glykokollhaltigen Nährlösungen kräftige Ammoniakbildung zeigte; in der Hippursäure-Mannit-Nährlösung konnte nur eine schwache Verfärbung des Nesslerschen Reagens durch die Cladosporiumzucht bemerkt werden.

Aus den hier und früher mitgeteilten Versuchen ergibt sich, daß alle von mir geprüften Pilze, d. s. Botrytis Bassiana, Penicillium crustaceum (glaucum), Mucor γ Boidin, Cladosporium herbarum, Phytophthora infestans, Penicillium brevicaule, Aspergillus glaucus, Aspergillus niger, Isaria farinosa und Fusisporium,

Harnstoff und Harnsäure und unter entsprechenden Versuchsbedingungen auch Glykokoll und Hippursäure als Stickstoffquelle ausnutzen können. Diese Fähigkeit, die schon Czapek[1]) für Aspergillus niger festgestellt hat, wurde kürzlich auch von Puriewitsch[2]) für den gleichen Pilz wieder nachgewiesen.

Da auch mit der Aufnahme des freien Luftstickstoffs gerechnet werden mußte, wurden Kontrollversuche mit den gleichen Nährlösungen ohne Stickstoffquellen ausgeführt, in denen es aber höchstens zu geringfügigen Flockenbildungen kam.

Wie ich weiter finden konnte, sind einige von den erwähnten 10 Pilzen auch imstande, Harnsäure (z. B. Aspergillus glaucus, Isaria farinosa, Penicillium glaucum, Mucor Boidin, Phytophthora, Botrytis Bassiana), Hippursäure (z. B. Penicillium glaucum, Aspergillus niger, Aspergillus glaucus, Isaria farinosa, Botrytis Bassiana, Phytophthora, Cladosporium, Fusisporium) und Glykokoll (z. B. Penicillium glaucum, Botrytis Bassiana, Isaria farinosa, Phytophthora, Cladosporium, Fusisporium, Aspergillus niger, Aspergillus glaucus, Mucor Boidin) als gemeinsame alleinige Kohlenstoff- und Stickstoffquelle zu verwerten. Näheres hierüber und über das Verhalten der zehn Pilze zu Guanin und Guanidin und das Verhalten von Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen zu Chitin wird eine spätere Mitteilung bringen. Nach Nägeli und Loew[3]) ist der Harnstoff wohl eine gute Stickstoffquelle für Pilze, kann ihnen aber nicht als Kohlenstoffquelle dienen. Diakonow[4]) hat die Verwendbarkeit des Harnstoffs als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle für Penicillium geprüft. Nach Raciborski[5]) ist Hippursäure für Penicillium Poiraulti, nicht aber für Basidiobolus ranarum eine gute gemeinsame Stickstoff- und Kohlenstoffquelle. Ebenso fand Went[6]), daß Monilia sitophila Glykokoll als alleinige Stickstoff- und Kohlenstoffquelle, Harnstoff und Hippursäure nur als Stickstoffquellen auszunutzen vermag. Die Verwendbarkeit von Harnstoff, Harnsäure und Glykokoll als ge-

[1]) F. Czapek, Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie, Bd. 1, 1902, S. 538, Bd. 2, 1902, S. 580.

[2]) K. Puriewitsch, Biochemische Zeitschrift, Bd. 38, 1912, S. 477.

[3]) Nägeli und Loew, Sitzungsb. d. kgl. Akad. München, math.-phys. Kl., 10, 1880, S. 277.

[4]) N. W. Diakonow, Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch., Bd. 5, 1887, S. 385.

[5]) M. v. Raciborski, Flora, 1896, Bd. 82, S. 107.

[6]) F. C. Went, Ber. d. deutschen bot. Gesellsch. 1896, Bd. 16, S. 158.

meinsame Stickstoff- und Kohlenstoffquelle für die Ernährung von Saprolegnia mixta hat Klebs[1]) betont. Eine Entwicklung von Asp. niger bei Darbietung von Hippursäure als Kohlenstoffquelle und ebenso als Stickstoffquelle beobachtete J. Nikitinsky[2]). O. Emmerling[3]) hat das Wachstum einiger Pilze im hohlen Objektträger (feuchte Kammer) bei Darbietung von Glykokoll und anderer Aminosäuren als alleiniger Kohlenstoff- und Stickstoffquelle wahrgenommen und zwar zeigten Pen. glaucum und Asp. Oryzae sehr kräftige, Asperg. niger, A. clavatus und Mucor Mucedo spärliche Entwicklung in glykokollhaltiger Nährlösung.

Bemerken möchte ich noch, daß Harnstoff von vielen Forschern gelegentlich verschiedener Untersuchungen als Stickstoffquelle für Pilze Verwendung fand, wobei aber nur die Assimilation nicht aber die Art der Zersetzung berücksichtigt wurde, so z. B. auch von Linossier und Roux[4]), Wehmer[5]), Namyslowski[6]) u. A.[7]).

Auch Hagem[8]) hat eigentlich nur die Verwendbarkeit von Harnstoff, Harnsäure und Hippursäure als Stickstoffquelle und Glykokoll als Stickstoffquelle und Kohlenstoffquelle für Mucorineen nachgewiesen, da der Ammoniaknachweis mit Hilfe des Nesslerschen Reagens, wie ich dies schon früher betont habe[9]) in seinen dextrosehaltigen Nährlösungen bei den drei ersten Verbindungen nicht beweiskräftig erscheint.

Angesichts des Umstandes, daß gewisse Schimmelpilze unter veränderten Versuchsbedingungen dazu veranlaßt werden können, alle vier eingangs erwähnten Verbindungen zu assimilieren, ergibt sich die Frage, ob diese Erscheinung nicht auch bei Bakterien zutrifft. Leider sind die Schellmannschen Bakterien[10]) nicht mehr erhältlich, so daß eine Nachprüfung nicht stattfinden kann, auch sind von den von Schellmann

---

[1]) G. Klebs, Jahrb. f. wissensch. Botanik, Bd. 33, 1899, S. 513.

[2]) J. Nikitinsky, Jahrb. f. wissensch. Botanik, Bd. 44, 1904, S. 1.

[3]) O. Emmerling, Ber. d. deutschen chem. Gesellschaft, Bd. 35, 1902, S. 2289.

[4]) Linossier und Roux, Arch. de med. exper. t. 2, 1890, S. 62.

[5]) C. Wehmer, Botanische Zeitung, Bd. 49, 1891, S. 233.

[6]) B. Namyslowski, Anzeiger der Akademie der Wissenschaften in Krakau, Serie B. 1910, S. 477.

[7]) S. auch die Ausführungen W. Beneckes in Lafars Handbuch der Techn. Mykologie, Bd. 1, 1905, S. 401 f. und W. Kruse, Allgem. Mikrobiologie, 1910, S. 108 f.

[8]) O. Hagem, Videnskabs-Selskabets Skrifter, I, math. nat. Kl. 1910. No. 4.

[9]) Al. Kossowicz, diese Zeitschrift, Bd. 1, 1912, S. 319.

[10]) W. Schellmann, Über hippursäurezersetzende Bakterien. Dissertation Göttingen, 1902.

isolierten 25 Hippursäure-, 5 Harnstoff- und 4 Harnsäurebakterien nur fünf, darunter drei die Harnstoff, Harnsäure und Hippursäure, zwei die bloß Hippursäure assimilieren, näher beschrieben worden, so daß die ganzen Untersuchungen zu diesem Zwecke vom Grunde aus neu aufgenommen werden müßten[1]).

Nitritassimilation durch Schimmelpilze.

1. Mitteilung.

Von **Alexander Kossowicz.**

Raulin[2]) sieht Nitrite für die Ernährung des Aspergillus als minderwertig bezw. ungeeignet an. K. Wolf[3]) konnte feststellen, daß Mucor Mucedo Nitrat zu Nitrit reduziert und daß bei Eintritt einer kräftigen alkoholischen Gärung auch die salpetrige Säure verschwindet. Winogradsky und Omeliansky[4]) bemerkten in Nitritlösungen die Entwicklung eines nitritassimilierenden Schimmelpilzes. Treboux[5]) gab in einer im Jahre 1904 erschienenen vorläufigen Mitteilung über die Stickstoffernährung der grünen Pflanzen ganz allgemein und nur so nebenbei, ohne Nennung der betreffenden Pilze und der gebrauchten Nährlösungen an, daß Nitrite auch für Pilze bei alkalischer Reaktion der Nährlösung meist eine gute Stickstoffquelle sind, während saure Lösungen durch Freimachung der stark giftigen salpetrigen Säure tödlich wirken. Raciborski[6]) konnte Nitritassimilation ohne Ammoniakbildung durch eine von ihm isolierte Cylindrotrichum-Art beobachten. Aspergillus niger, dessen Verhalten zu Nitriten von Raciborski gleichfalls geprüft wurde, zeigte in den von ihm zur Anwendung gebrachten Saccharose-Nitrit-

[1]) S. auch F. Löhnis, Fortschritte der landw. Bakteriologie II, diese Zeitschrift, Bd. 1, 1912, S. 342.

[2]) Raulin, Nach W. Benecke in Lafars Handbuch der Technischen Mykologie, Bd. 1, 1905, S. 404.

[3]) K. Wolf, Hygienische Rundschau, Bd. 9, 1899, S. 546.

[4]) Winogradsky und Omeliansky, Centralbl. f. Bakteriologie, 2. Abt. Bd. 5, 1899, S. 329.

[5]) O. Treboux, Berichte der Deutschen botan. Gesellschaft, Bd. 22, 1904, S. 570.

[6]) M. Raciborski, Anzeiger der Akademie der Wissenschaften in Krakau, math. nat. Kl. 1906, S. 733.

lösungen eine sehr schlechte Entwicklung. Während eine Reihe von Mucorineen in Hagems[1]) Versuchen in Nitritlösungen nur ein äußerst spärliches Wachstum aufwiesen, kamen andere und zwar Mucor racemosus, M. Christianensis, M. sphaerosporus, M. griseo-cyanus, M. genevensis, M. 179a, M. 174a, M. spinosus und M. circinelloides zu einer sehr guten Entwicklung und Fruktifikation. Hagem glaubte bei den einzelnen Mucorineen eine bald stärkere, bald schwächere Ammoniakreaktion mit Hilfe des Nesslerschen Reagens nachweisen zu können. Nachdem aber Hagem dextrosehaltige Nährlösungen verwendet hat, ist diese Feststellung, wie ich schon bei anderer Gelegenheit[2]) hervorgehoben habe, nicht beweiskräftig. Nach Ritter[3]) wachsen Cladosporium herbarum, Mucor racemosus und Mucor spinosus gut auf einer 0,7 % $NaNO_2$ haltigen Traubenzuckerlösung mit den erforderlichen Mineralsalzen. Ritter macht hierüber in seiner Abhandlung nur diese hier mitgeteilte kurze Angabe ohne Bekanntgabe der durchgeführten Versuche.

Da bisher eigentlich nur über Mucorineen nähere Untersuchungen hinsichtlich ihres Verhaltens zu Nitriten vorliegen und bezüglich der Art der Nitritassimilation Widersprüche herrschen, wurden von mir Untersuchungen über die Nitritassimilation durch Schimmelpilze wieder aufgenommen. Von den zahlreichen Versuchsreihen, die von mir ausgeführt wurden, sollen hier nur einige näher erwähnt werden. Meinen Schülern, den Herren Ingenieur-Chemiker Otto Fessler, Militär-Unterintendanten Leopold von Gröller und Josef Hanisch und cand. chem. Walter Loew, die mir bei der Herstellung einzelner Nährlösungen und Durchführung einiger Untersuchungen behilflich waren, danke ich auch an dieser Stelle bestens.

Zu den Versuchen wurden die folgenden zehn Pilze herangezogen: Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum Link (aus der Kralschen Sammlung), Mucor γ Boidin, Cladosporium herbarum, Phytophthora infestans, Penicillium brevicaule, Aspergillus glaucus, Aspergillus niger, Isaria farinosa und Fusisporium.

1. Versuch. Die genannten Pilze wurden in eine Nährlösung (in Erlenmeyerkölbchen zu 50 ccm) von der Zusammensetzung: 1000 ccm Leitungswasser, 50 g Handelsraffinade, 1 g KNO_2, 0,5 g KH_2PO_4,

---

[1]) O. Hagem, Untersuchungen über norwegische Mucorineen II, Videnskabs-Selskabets Skrifter I. Math. nat. Kl, 1910, No. 4, Sonderabdruck.

[2]) Al. Kossowicz, Diese Zeitschrift, Bd. 1, 1912, S. 319.

[3]) G. E. Ritter, Ber. der deutschen botanischen Gesellschaft, Bd. 29, 1911, S. 590.

0,5 g $MgSO_4$ eingebracht. Schon nach 2 bis 3 Tagen zeigten die Pilze bei einer Versuchstemperatur von 20° C gute Entwicklung.

Nach Verlauf von 9 Tagen gab nur Mucor Boidin noch Nitritreaktion, jedoch keine Reaktion mit dem Nesslerschen Reagens. Eine schwache Reaktion mit dem Nesslerschen Reagens wurde bei Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum und Fusisporium vorgefunden; die übrigen Pilze zeigten eine kräftige Reaktion. Natürlich ist dies kein Beweis für die Ammoniakbildung, sondern nur für das Vorhandensein reduzierender Substanzen in der Nährlösung. Nitratbildung konnte nicht nachgewiesen werden.

2. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm Leitungswasser, 2 g KNO_2, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, 20 g Handelsraffinade. Alle zehn Pilze kamen bei einer Versuchstemperatur von 20° C zu einer guten kräftigen Entwicklung und Fruktifikation.

3. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm Leitungswasser, 10 g Mannit, 5 g KNO_2, 10 g weinsaures Kalium-Natrium, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$. Alle Pilze kamen zur Entwicklung und Fruktifikation. Der Nachweis von Ammoniak mit dem Nesslerschen Reagens fiel vor und nach Zusatz von Soda und Natronlauge negativ aus, es konnte keine Ammoniakbildung festgestellt werden. Es ist also die Annahme nicht unberechtigt, daß manche Pilze das Nitrit-Jon auch direkt, ohne vorherige Bildung von Ammoniak, zu assimilieren vermögen.

4. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 10 g KNO_2, 25 g Dextrose, 2,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$. Die Pilze zeigten nach Verlauf von 2 bis 4 Tagen bei einer Versuchstemperatur von 20° C gute Entwicklung und Fruktifikation. Alle Erlenmeyerkölbchen mit den Pilzkulturen und auch die unbeimpften Kontrollkölbchen gaben eine sehr kräftige Reaktion mit dem Nesslerschen Reagens; diese Reaktion ist auf die Dextrose zurückzuführen, nicht etwa auf eine Ammoniakaufnahme aus der Luft, denn zwei Kontrollkölbchen mit der gleichen Nährlösung, der nur die Dextrose fehlte, gaben die Reaktion nicht. Das Nesslersche Reagens verändert sich übrigens, nebenbei bemerkt, frei der Luft ausgesetzt, auch erst nach längerer Zeit.

5. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 5 g KNO_2, 10 g Mannit, 0,2 g KH_2PO_4, 0,2 g $MgSO_4$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$. Alle Pilze, mit Ausnahme des schwach entwickelten A. niger, zeigten nach einer Woche gute Entwicklung

und Fruktifikation. Die Reaktion mit dem Nesslerschen Reagens fiel bei acht Pilzen vor und nach Zusatz von Soda und Natronlauge negativ aus, nur bei Phytophthora und Fusisporium konnte Ammoniakbildung festgestellt werden.

Erwähnt sei noch, daß sich im allgemeinen in meinen Versuchen Dextrose und Rohrzucker als Kohlenstoffquelle viel besser bewährt haben, als Mannit.

Hier wurde nur eine Auswahl der ausgeführten Versuche gegeben, aus denen jedoch schon deutlich hervorgeht, daß alle zehn daraufhin untersuchten Schimmelpilze Nitrite als alleinige Stickstoffquelle assimilieren können. Da hierbei ein Ammoniaknachweis nur bei zwei Pilzen erbracht werden konnte, ist also die Schlußfolgerung berechtigt, daß Schimmelpilze das Nitrit-Jon auch direkt, ohne vorhergehende Reduktion zu Ammoniak, aufnehmen können. In sonst guten Nährlösungen wurde bei mäßigen Konzentrationen eine besondere Giftwirkung von Nitriten auf Schimmelpilze nicht beobachtet.

Von mir gemeinsam mit Herrn Militärunterintendanten Josef Hanisch ausgeführte Untersuchungen über die Nitratassimilation durch Schimmelpilze wird eine nächste Mitteilung bringen.

Rhodanverbindungen (Schwefelcyanverbindungen) als Kohlenstoff-, Stickstoff- und Schwefelquelle für Schimmelpilze, Sproßpilze (Hefen) und Bakterien.

Von **Alexander Kossowicz** und **Leopold von Gröller.**

I. Mitteilung.

Verhalten der Schimmelpilze zu Rhodanverbindungen. I.

Wegen des Vorkommens von Rhodanverbindungen im Harn und im unreinen Ammonsulfat, sowie der Verwendung rhodanhaltiger Präparate, wie der „Sulfocyanure“ als Düngemittel, kommen Untersuchungen über die Umsetzungen, die Schwefelcyanverbindungen durch Mikroorganismen erleiden, eine gewisse Bedeutung für die landwirtschaftliche Praxis zu, umsomehr als die Düngungsversuche mit rhodanhaltigen Materialien selbst recht widersprechende Resultate ergaben[1]. Auch in Nahrungsmitteln sind Rhodanverbindungen enthalten, so in der Milch[2], im Käse[3] und auch der menschliche Speichel weist geringe Mengen von Rhodanaten[4] auf.

Die Literatur über das Verhalten von Mikroorganismen zu Schwefelcyanverbindungen ist eine recht spärliche. Nach Nägeli[5] wird Rhodanammon von Pilzen nicht assimiliert. Holchewnikoff[6] konnte eine Zersetzung von Rhodanverbindungen durch Bakterien nicht beobachten.

---

[1] Die weitere Literatur hierüber findet der Leser in F. Löhnis, Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie, 1910, S. 600, 601.

[2] P. Sommerfeld, Handbuch der Milchkunde, 1909, S. 103.

[3] F. J. Herz, Österr. Molkereizeitung, Bd. 2, 1895, S. 162.

[4] W. Kruse, Allgemeine Mikrobiologie, 1910, S. 652.

[5] Nägeli, Unters. über niedere Pilze. München und Leipzig, 1882, S. 67.

[6] Holchewnikoff, Fortschritte der Medizin, Bd. 7, 1889, S. 201.

Man findet in seiner Abhandlung darüber nur die kurze Notiz: „Alle Versuche mit Rhodanverbindungen fielen negativ aus." Weitere Angaben über seine Versuche fehlen. Eine Entwicklung von Aspergillus niger in einer Rhodannatriumlösung (weiße Decke) beobachtete Czapek[1]), ein Befund der kürzlich von Puriewitsch[2]) bestätigt wurde, der über die Assimilation von Kaliumrhodanat durch diesen Pilz berichtet. Nach Beijerinck[3]) werden Rhodanate durch Bakterien unter Schwefelabscheidung zersetzt; weitere Angaben hierüber fehlen auch hier. Anzuschließen wären noch die Beobachtungen von Munro[4]) und Perotti[5]), die in mit Erde geimpften Nährlösungen eine Überführung von Rhodanverbindungen in Ammoniak feststellen konnten.

Unsere Untersuchungen wurden nun ausgeführt, um zu erfahren, ob Rhodanverbindungen Schimmelpilzen, Sproßpilzen (Hefen) und Bakterien 1. als Stickstoffquelle, 2. als Kohlenstoffquelle, 3. als gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle, 4. als Schwefelquelle dienen können und 5. ob und inwieweit sie eine Giftwirkung auf Mikroorganismen ausüben.

Zu den Versuchen wurden zunächst die nachfolgenden Schimmelpilze in Reinzucht verwendet: Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum, Mucor γ Boidin, Cladosporium herbarum, Phytophthora infestans, Penicillium brevicaule, Aspergillus glaucus, Aspergillus niger, Isaria farinosa und Fusisporium.

I. Rhodanate als Stickstoffquelle.

1. Versuch: Rhodanammon als Stickstoffquelle. Eine sterilisierte Nährlösung von der Zusammensetzung 1000 ccm Leitungswasser, 3 g NH_4CNS, 25 g Dextrose, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$ in Erlenmeyerkölbchen zu 50 ccm wurde mit den oben genannten Pilzen beimpft und bei einer Temperatur von ca. 20 ° C gehalten. Schon nach 2 bis 3 Tagen zeigten alle zehn Pilze Entwicklung. Die weitere Entwicklung schritt dann nur langsam weiter fort und kam nach ca. 8 Tagen zum Stillstande. Die direkte Prüfung auf Schwefelwasserstoffbildung mit Blei-

---

[1]) F. Czapek, Beiträge zur chem. Physiologie und Pathologie, Bd. 3, 1903, S. 47.

[2]) K. Puriewitsch, Biochemische Zeitschrift, Bd. 38, 1912, S. 13.

[3]) M. W. Beijerinck, Centralbl. f. Bakt. 2. Abt. Bd. 11, 1904, S. 593.

[4]) J. H. M. Munro, Chemic. News, 53, 1886, S. 307; Journ. Chem. Soc. 49, 1886, S. 632.

[5]) R. Perotti, Staz. sperim. agrar. ital., 39, 1906, S. 406.

papier und Bleizuckerlösung ergab ein negatives Resultat. 14 Tage nach Versuchsbeginn eingehängte Bleipapierstreifen wurden nach Verlauf von 10 Tagen nur von Mucor Boidin, A. glaucus und A. niger geschwärzt. Von den zehn untersuchten Pilzen waren also nur diese drei Pilze befähigt, in der sulfathaltigen Nährlösung Schwefelwasserstoff zu entwickeln. Der Versuch dauerte vier Wochen. Nach Verlauf dieser Zeit hatten alle Pilze in der Nährlösung schwächliche Decken mit Fruktifikation aufzuweisen. Die Nährlösungen blieben klar. Eine Schwefelabscheidung trat nicht ein.

2. Versuch: Kaliumrhodanat als Stickstoffquelle. Die Nährlösung bestand aus 1000 ccm Leitungswasser 5 g KCNS, 25 g Dextrose, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$. Temperatur 20° C, Versuchsdauer 30 Tage. Die Entwicklung der Pilze war eine schwache und kam schon nach wenigen Tagen zum Stillstande. Nur Cladosporium herbarum und Fusisporium zeigten eine ansehnliche Entwicklung. Ersterer war dunkelolivgrün, Fusisporium rot gefärbt. Die Reaktion der Nährlösung war am Schlusse des Versuchs schwach sauer. Schwefelwasserstoffbildung hatte nur bei Mucoir Boidin stattgefunden. Die Nährlösungen blieben klar. Eine Schwefelabscheidung konnte nicht wahrgenommen werden.

3. Versuch: Natriumrhodanat als Stickstoffquelle. Die Versuchsanordnung entsprach der des 2. Versuches. Die Pilze zeigten das gleiche Verhalten wie im 2. Versuch.

4. Versuch: Kaliumrhodanat als Stickstoffquelle. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm dest. Wasser, 2 g KCNS, 5 g Mannit, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$. Temperatur 20° C, Versuchsdauer vier Wochen. Alle Pilze zeigten schwache aber deutliche Entwicklung, die beste Entwicklung war bei Isaria farinosa und Fusisporium zu bemerken. Die Entwicklung kam nach einer Woche zum Stillstand. Ammoniak, Nitrit und Nitrat konnten in der Nährlösung nicht nachgewiesen werden.

5. Versuch: Ferrum rhodanatum als Stickstoffquelle. Wie der 4. Versuch, nur enthielt die Nährlösung statt KCNS 2 g Eisenrhodanat. Versuchsdauer vier Wochen. Alle Pilze zeigten sehr schwache Entwicklung.

In den sterilisierten unbeimpften Kontrollkolben konnten weder Schwefelabscheidung noch Ammoniak-, Nitrit- oder Nitrat-Bildung wahrgenommen werden. Pilzkulturen in Nährlösungen der gleichen Zusammensetzung ohne jede Stickstoffquelle zeigten nur manchmal sehr geringfügige Flockenbildung während der Versuchsdauer von vier Wochen.

Aus diesen fünf Versuchen folgt, daß alle untersuchten Pilze Rhodanverbindungen, am besten NH_4CNS, als Stickstoffquelle verwerten können.

II. Rhodanverbindungen als Kohlenstoffquelle.

Zur Verwendung kamen die nachfolgenden Nährlösungen bei einer Versuchstemperatur von 20° C und einer Versuchsdauer von vier Wochen.

1. Versuch: Ammoniumrhodanat als Kohlenstoffquelle. 1000 ccm Leitungswasser, 5 g NH_4CNS, 2 g KNO_3, 2 g NH_4NO_3, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$.

2. Versuch: Rhodankalium als Kohlenstoffquelle. 1000 ccm Leitungswasser, 5 g KCNS, 2 g KNO_3, 2 g NH_4NO_3, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$.

3. Versuch: Natriumrhodanat als Kohlenstoffquelle. 1000 ccm Leitungswasser, 5 g NaCNS, 2 g KNO_3, 2 g NH_4NO_3, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$.

4. Versuch: Ferrum rhodanatum als Kohlenstoffquelle. Wie Versuch 3, nur enthielt die Nährlösung statt Natriumrhodanat 2 g Eisenrhodanat.

5. Versuch: Natriumrhodanat als Kohlenstoffquelle. 1000 ccm destilliertes Wasser, 2 g NaCNS, 2 g $(NH_4)_2HPO_4$, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $FeCl_3$.

In allen diesen fünf Versuchen kam es, abgesehen von geringen Flockenbildungen, zu keiner Entwicklung. Die zehn untersuchten Pilze können Rhodanverbindungen als alleinige Kohlenstoffquelle nicht ausnützen.

III. Rhodanverbindungen als gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle.

Es kamen die nachfolgenden Nährlösungen in Verwendung bei einer Versuchstemperatur von 20° C und einer Versuchsdauer von vier Wochen.

1. Versuch: Ammoniumrhodanat als gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle. 1000 ccm Leitungswasser, 2 g NH_4CNS, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$.

2. Versuch: Desgleichen, mit höherer Konzentration ohne weitere Schwefelverbindungen. 1000 ccm Leitungswasser, 10 g NH_4CNS, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgCl_2$.

3. Versuch: Kaliumrhodanat als gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle. 1000 ccm Leitungswasser, 2 g KCNS, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$.

4. Versuch: Desgleichen, mit höherer Konzentration, ohne weitere Schwefelverbindungen. 1000 ccm Leitungswasser, 10 g KCNS, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgCl_2$.

5. Versuch: Natriumrhodanat als gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle. 1000 ccm Leitungswasser, 10 g NaCNS, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgCl_2$.

6. Versuch: Ferrum rhodanatum als gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle. 1000 ccm Leitungswasser, 5 g Rhodaneisen, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgCl_2$.

In diesen sechs Versuchsreihen zeigten die zehn Pilze, abgesehen von gelegentlichen sehr geringfügigen Flockenbildungen keine Entwicklung, sie waren also nicht imstande Rhodanverbindungen als alleinige gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle zu benutzen.

IV. Rhodanverbindungen als Schwefelquelle.

Eine vollständige Ausschließung von geringen Schwefelspuren in den Nährlösungen ist bekanntlich kaum zu erreichen[1]). Doch lassen sich schon aus dem Vergleich der Pilzentwicklung in Nährlösungen, die Rhodanverbindungen enthalten und in solchen, die überhaupt keinen Zusatz von Schwefelverbindungen bekamen, ganz gute Schlüsse ziehen.

1. Versuch: Nährlösung ohne Schwefelverbindungen. 1000 ccm destilliertes Wasser, 10 g Mannit, 1 g KH_2PO_4, 2 g KNO_2, 2 g NH_4Cl, 0,5 g $MgCl_2$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$. Versuchstemperatur 20° C, Versuchsdauer vier Wochen. Die Pilze zeigten darin nur geringfügige Flockenbildungen.

2. Versuch: Kaliumrhodanat als alleinige Schwefelquelle. 1000 ccm destilliertes Wasser, 5 g KCNS, 10 g Mannit, 1 g KH_2PO_4, 2 g KNO_2, 2 g NH_4Cl, 0,5 g $MgCl_2$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$. Versuchstemperatur 20° C, Versuchsdauer vier Wochen. Alle Pilze zeigten Entwicklung und schwache Deckenbildung. Eine Schwefelabscheidung konnte nicht wahrgenommen werden, ebensowenig Schwefelwasserstoff- und Schwefelsäurebildung.

3. Versuch: Ammoniumrhodanat als gemeinsame Stickstoff- und Schwefelquelle. 1000 ccm destilliertes Wasser, 5 g NH_4CNS, 20 g Dextrose, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgCl_2$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$. Versuchstemperatur 20° C, Versuchsdauer vier Wochen. Alle zehn Pilze zeigten Entwicklung und schwache Deckenbildung. Sie vermochten jedenfalls den Schwefel der Rhodanverbindungen aus-

[1]) W. Benecke, Jahrb. f. wissenschaftl. Bot., 1895, Bd. 28, S. 487.

zunutzen. Schwefelsäure war in der Nährlösung nicht nachweisbar. Eine Schwefelabscheidung trat nicht ein. Mucor Boidin zeigte starke Schwefelwasserstoffentwicklung.

V. Giftwirkung der Rhodanverbindungen.

Es wurde bereits eingangs erwähnt, daß die Entwicklung der Pilze in Rhodannährlösungen meist schon nach wenigen Tagen eine Hemmung erfuhr und bald zum Stillstand kam. Es erschien daher von Interesse, die Giftwirkung der Rhodanverbindungen auf Pilze zu prüfen.

1. Versuch: 1 % Rhodankalium. 1000 ccm Leitungswasser, 10 g KCNS, 5 g KNO_3, 5 g NH_4NO_3, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, 25 g Dextrose. Versuchstemperatur 20 ° C, Versuchsdauer vier Wochen. Schon nach 3 bis 4 Tagen zeigten die Pilze deutliche Entwicklung und Deckenbildung, die aber nach ca. 8 bis 10 Tagen zum Stillstand kam. Nach vier Wochen wurden die Pilze aus den Rhodannährlösungen auf Kartoffelstreifen und auf Würzeagar abgeimpft, wo sie zur Entwicklung kamen. Die Pilze hatten also in der 1-prozentigen Rhodankalilösung keine Abtötung erfahren. Von den zehn Pilzen zeigte nur Mucor Boidin Schwefelwasserstoffbildung in der Rhodanatlösung.

2. Versuch: 3 % Kaliumrhodanat. Die Nährlösung und Versuchsanordnung war sonst die gleiche wie im 1. Versuch. Das Verhalten der Pilze war ebenfalls gleich.

3. Versuch: 10 % Kaliumrhodanat. Die Nährlösung und Versuchsanordnung war sonst die gleiche wie im 1. Versuch. Es kam in der Nährlösung zu ziemlich guter Entwicklung der Pilze; sie erfuhren im Laufe von vier Wochen keine Abtötung.

4. Versuch: 0,2 % Kaliumrhodanat. Die Nährlösung und Versuchsanordnung war sonst die gleiche wie im 1. Versuch. Die Pilze zeigten gute Entwicklung und Fruktifikation.

5. Versuch: 0,2 % Natriumrhodanat. Sonst wie der 4. Versuch. Die Pilze zeigten gute Entwicklung und Fruktifikation.

6. Versuch: 0,5 % Kaliumrhodanat. Sonst wie der 4. Versuch. Die Entwicklung der Pilze war eine langsamere und schwächere wie im 4. Versuch. Die Pilze zeigten Fruktifikation.

7. Versuch: 1 % Rhodankalium. 1000 ccm destilliertes Wasser, 10 g KCNS, 2 g $(NH_4)_2HPO_4$, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, 25 g Dextrose, eine Spur $FeCl_3$. Die Entwicklung der Pilze war eine wesentlich bessere als im 1. Versuch, die Entwicklungshemmung weit weniger merklich.

Zusammenfassung.

Aus den hier mitgeteilten Versuchen geht hervor:

1. Die zehn daraufhin geprüften Pilze können Rhodanverbindungen als Stickstoffquelle verwerten.

2. Hierbei erfolgt eine Schwefelwasserstoffentwicklung durch Mucor Boidin und nur ausnahmsweise durch A. niger und A. glaucus.

3. Die zehn daraufhin geprüften Pilze vermögen Rhodanverbindungen als Schwefelquelle auszunützen. Schwefel wird dabei nicht abgeschieden; Mucor Boidin entwickelt Schwefelwasserstoff.

4. Die zehn daraufhin geprüften Pilze sind nicht imstande Rhodanverbindungen als alleinige Kohlenstoffquelle und als alleinige gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle zu verwerten.

5. Rhodanverbindungen üben eine deutliche Entwicklungshemmung auf Pilze aus. In sonst guten Nährlösungen zeigen die Schimmelpilze schon bei einem Gehalt von 0,5 % KCNS eine schwächere Entwicklung und Fruktifikation. Eine Abtötung der Pilze tritt aber auch in 1 % bis 10 % Rhodanatnährlösungen innerhalb einer Versuchsdauer von vier Wochen nicht ein. Auch bei 10 % Kaliumrhodanat hört die Entwicklung der Pilze nicht auf.

6. In mannithaltigen Nährlösungen ist die Entwicklung der Pilze eine viel schwächere und langsamere als in dextrosehaltigen Nährlösungen.

Versuche zur analytischen Bestimmung freier Schwefelsäure neben organischen Säuren und deren gärungsphysiologische Wirkung mit besonderer Berücksichtigung von Brennereimaischen.

Von **E. Bauer.**

Die Frage des Nachweises und der Bestimmung freier Schwefelsäure neben organischer Säure und deren Wirkung auf gärende Hefezellen ist nicht nur wissenschaftlich, sondern auch praktisch von weiterem Interesse.

Der Ersatz der Milchsäure bezw. des Milchsäureprozesses bei Herstellung von Hefenmaische durch Verwendung von Schwefelsäure hat im Brennereibetriebe Bedeutung erlangt. Die säurebildende und proteolytisch wirkende Funktion der Milchsäurebakterien konnte durch direkte rationelle Ernährung der Hefenpilze unter Anwendung geringer Schwefelsäuremengen vollkommen entbehrlich gemacht werden.

Die vom Verfasser gegebenen Schwefelsäuretabellen für verschiedene Maischmaterialien und Konzentrationen, welche mit Rücksicht auf den verschiedenen Aschen- und Aziditätsgrad derselben begrenzt wurden, haben sich im allgemeinen vollkommen bewährt. Immerhin mußten folgende Fragen von Interesse bleiben:

1. Kann das Auftreten freier Schwefelsäure durch eine praktikable und bekannte Methode erkannt werden?

2. Ist freie Schwefelsäure für die Hefe und Gärung unter normalen Verhältnissen schädlich?

3. Können die in Betracht kommenden Mengen den Mastwert der Schlempe schädigen oder für die Brennapparate gefährlich sein?

Vorausgesetzt sei, daß die Schwefelsäuremengen, welche nach dem Bauerschen Verfahren für Kartoffel-, andererseits für Maismaischen zur Anwendung gelangen, infolge des divergierenden Aschengehaltes der beiden Materialien verschieden sein mußten.

Der Aschengehalt des Maises kann im Durchschnitt auf 1,5—1,8 % gesetzt werden, während derselbe bei Kartoffeln nur etwa 1 % beträgt. Allein in Rücksicht dessen, daß 100 kg Mais 350—400 Liter Maische ergeben, wogegen Kartoffeln rund 100—120 Liter, bleibt für den Aschengehalt der Maismaische nur 0,4—0,6 % übrig, für die Kartoffelmaische dagegen 0,8—0,9 %. Es war also vorauszusetzen, daß die Maismaische in diesem Verhältnisse weniger Schwefelsäure in Anspruch nehmen wird, um die an organische Säuren gebundenen Basen zu binden, wogegen andererseits entsprechend weniger organische Säuren erwartet werden konnten. In der Tat ergaben außerdem einige Veraschungsversuche, daß die Kartoffelasche eine relativ höhere Alkalinität aufweist, als jene der Maismaische.

Auf 100 g Substanz berechnet erforderte die Asche

von Kartoffeln	10,7	ccm N. Schwefelsäure
von südungarischem Mais (Pferdezahn) .	5,87	„ „
von kleinkörnigem Jungmais (Cinquantin) .	3,76	„ „

Derartige Zahlen können allerdings nur einen beispielsweisen Wert beanspruchen, da dieselben großen Schwankungen unterworfen sein müssen.

Immerhin rechtfertigen diese Zahlen die Annahme, daß in der Regel die Kartoffel an und für sich höhere Säuremengen vertragen würde, als der Mais.

Die nach Bauer für die Brennereipraxis vorgeschriebene Schwefelsäuremenge auf 100prozentige Säure gerechnet beträgt für Kartoffelmaische von 14—24° S: — 220—260 g.

Für Maismaischen von 14—20° S: — 121—135 g. Die dadurch bewirkte Azidität schwankt bei Kartoffelmaischen zwischen 6,0—7,5 ccm N. Lauge auf 100 ccm bezogen, bei Maismaische zwischen 4,0—4,5 ccm.

Um nun der Frage näher zu kommen, ob innerhalb dieser Aziditätsgrenzen in der Maische freie Schwefelsäure, und in jener Menge auftreten könne, welche für Gärung, Apparatur und Mastung Bedenken erregen könnte, wurde eine Reihe von Versuchen angestellt.

Vorerst wurden einige zu diesem Zwecke empfohlene Indikatoren und die Titrationsmethode im allgemeinen auf Anwendungsmöglichkeit geprüft, doch gaben, wie voraussichtlich war, sämtliche zugezogene Indikatoren ein negatives Resultat.

Geprüft wurden die als Pflanzensäuren in Betracht kommenden Weinsäure, Oxalsäure und Zitronensäure.

Entsprechend 1/20 Normalgewicht wurden 0,75 g Weinsäure, 0,45 g kristallwasserfreie Oxalsäure, 0,70 g Zitronensäure in je 200 ccm destilliertem Wasser gelöst. Je 50 ccm dieser Lösungen, entsprechend 2,5 ccm $\frac{n}{1}$ organischer Säure wurden mit 0,5 ccm $\frac{n}{1}$ H_2SO_4 versetzt, so daß die Gesamtazidität 3 ccm entsprach und 1. mit $\frac{n}{1}$ Lauge titriert; 2. diese $\frac{n}{1}$ Lauge mit $\frac{n}{1}$ Schwefelsäure zurücktitriert.

Es sollten somit die ersten 0,5 ccm zugesetzter Lauge die Schwefelsäure binden, die weiteren 2,5 ccm die organische Säure, während umgekehrt beim Rücktitrieren mit $\frac{n}{1}$ H_2SO_4 bei 2,5 ccm die an Natron gebundene organische Säure in Freiheit gesetzt, worauf nach dem ersten Tropfen weiteren Zusatz freie H_2SO_4 durch den Indikator angezeigt werden sollte.

Die beobachteten Farbenübergänge bezw. Umschlagsgrenzen sind in Tabelle 1 wiedergegeben.

Diese Tabelle genügt, die vollkommene Unbrauchbarkeit der Titrationsmethoden zur quantitativen Unterscheidung von anorganischen neben organischen Säuren darzutun. Selbstredend werden die Verhältnisse bei komplizierten Gemischen und gefärbten Lösungen, wie dies auch bei Maische der Fall ist, noch weit ungünstiger hervortreten.

Auch die Fällungsmethoden werden in kolloiden Lösungen und in Anbetracht der präexistierenden Sulfate vollständig versagen, ebenso wie etwa indirekte Schlüsse aus der Zusammensetzung oder Reaktion einer Asche niemals auf einen vormaligen Überschuß an freier Schwefelsäure zulässig sein können, geschweige denn auf die quantitative Menge.

Aus dem Gesetze des chemischen Gleichgewichts (Goldberg und Waage) mußte vorausgesetzt werden, daß die in verdünnten Lösungen vor sich gehende Wechselwirkung zwischen organischen Salzen und freier Schwefelsäure keine stöchiometrisch glatte Reaktion stattfinden lasse. Abhängig von der Konzentration, den Mengenverhältnissen, von physikalischen Momenten und den Affinitätswerten der vorhandenen anorganischen und Pflanzensäuren, wird das zu erwartende Verhältnis kaum ein konstantes sein, doch müßte zweifellos ein Teil der Schwefelsäure als Endglied im Ionenzustande auftreten.

Als die in Knolle und Frucht vorkommenden Säuren wären in erster Linie in Betracht zu ziehen: Oxalsäure, Apfelsäure, Weinsäure, Zitronensäure, Pektinsäure und ähnlich wirkende schwache Säuren, endlich Milchsäure.

Da die Affinitätsdifferenzen dieser verschiedenen Säuren gegenüber der Schwefelsäure kaum wesentlich zur Geltung kommen werden, würde vorerst die Erforschung der Zersetzungsvarianten an einem einfachen

Tabelle 1.

	Weinsäure		Oxalsäure		Zitronensäure	
	I Titriert mit $\frac{n}{1}$ Lauge	II Rückfitriert mit $\frac{n}{1}$ Säure	I Titriert mit $\frac{n}{1}$ Lauge	II Rücktitriert mit $\frac{n}{1}$ Säure	I Titriert mit $\frac{n}{1}$ Lauge	II Rücktitriert mit $\frac{n}{1}$ Säure
Methylviolett. Bei sämtlichen Titrationen die Farbenübergänge allmählich. Grenze zwischen organischer und anorganischer Säure nicht erkennbar.	Farbe bei 0,7 ccm zweifelhaft violett, erst bei 1,0 ccm zweifellos violett (statt bei 0,5 ccm); von ca. 1,4 ccm bis 3,0 ccm unverändert rotviolett	Farbe bei 2,25 ccm blauviolett, 2,5 ccm blauviolett, 2,75 ccm blauviolett, erst bei 3,15 ccm stahlblau (statt bei 2,5 ccm)	Farbe bei 1,5 ccm deutlich violett (statt bei 0,5 ccm); bei 2,0 ccm bis 3,0 ccm violett	Farbe bei 1,5 ccm blauviolett bei 2,0 ccm hellblau bei 2,3 ccm stahlblau (statt bei 2,5 ccm)	Farbe bei 0,7 ccm violett (statt bei 0,5 ccm) bei 1,3 ccm bis 3,0 ccm rotviolett	Farbe bis 2,8 ccm allmählich blau (statt bei 2,5 ccm scharf blau)
Äthylorange	Übergänge ganz allmählich von Orange in Gelb, vice versa von Gelb in Orange, nach Bindung der anorganischen Säure ist eine Farbenänderung nicht zu beobachten.					
Congorot	Allmähliche Übergänge von Braunrot in Violett und umgekehrt. Unterschied beim Prävalieren der anorganischen Säure ist nicht zu bemerken.					
Cochenille	Allmählicher Übergang von Rot in Orange und in entgegengesetzter Reihenfolge beim Rücktitrieren. Unterschied beim Übergang von organischer in anorganische Säure nicht vorhanden.					
Rosolsäure	Übergang von Rot in Gelb und umgekehrt, ebenfalls ganz allmählich.					
Salicylsaures Eisen	Indikator bleibt farblos; die erste Spur Alkali färbt die Lösung orange.					

organischen Salze, wie etwa solche dem praktischen Vorgange in der Maische entsprechen würden, von hohem Interesse sein. Es wurde versucht dieser Frage auf direktem Wege einigermaßen näher zu kommen durch Anwendung einer Methode, die, wie von vornherein betont, keineswegs als einwandfrei betrachtet werden kann, jedoch die einzige Möglichkeit bot, die Menge der freien Schwefelsäure auf direktem Wege zu bestimmen. Zu diesem Zwecke wurde chemisch reiner Weinstein ($C_4H_4O_6KH$) in destilliertem Wasser gelöst und mit steigenden Mengen Halbnormalschwefelsäure versetzt. Die dann am Wasserbade bis fast zur Trockne eingedunstete Lösung wurde zum Lösen der Schwefelsäure mit 96,5 prozentigem Alkohol digeriert und abfiltriert. Die mit Wasser versetzte alkoholische Lösung wurde zur Bestimmung der Schwefelsäure mit Chlorbarium benutzt.

Ein Kontrollversuch ergab, daß der alkoholische Auszug nur 0,0005 g in Lösung gegangenes Salz enthielt, somit eine zu vernachlässigende Spur.

Diese Methode würde also keineswegs das wirkliche Zustandsverhältnis in der ursprünglichen Lösung erkennen lassen, da mit zunehmender Konzentration und verminderter Löslichkeit des Salzgemisches veränderte Verhältnisse eintreten müssen. Immerhin wird der positive Nachweis der Schwefelsäure in Verbindung mit der weiter befolgten physiologischen Methode als Beweis zu gelten haben, daß tatsächlich eine, je nach den Verhältnissen variable Menge von freier Schwefelsäure auftreten wird und daß in verdünnten Lösungen eine Vergrößerung der Dissoziationsverhältnisse vorauszusetzen wäre.

Stöchiometrisch würde 1 g Weinstein ($C_4H_4O_6KH$) zur Bildung von K_2SO_4 eine Menge von 260,65 mg Schwefelsäure erfordern, oder 10,62 ccm $\frac{n}{2}$ Schwefelsäure. Es ist anzunehmen, daß bei ungenügendem Schwefelsäurezusatz die Bildung von K_2SO_4 begünstigt wird, dagegen mit größerem Säurezusatz die Bildung von $KHSO_4$, so daß, je nach dem möglichen Gleichgewichtszustande die Bildungsphasen durch folgendes Schema zum Ausdruck gelangen würden:

$$C_4H_4O_6KH + \gtrless H_2SO_4$$
$$= \gtrless (H_2SO_4 + KHSO_4 + K_2SO_4 + C_4H_4O_6KH + C_4H_6O_6).$$

Aus dieser Überlegung ergibt sich, daß die absolute Bindungsmenge der Schwefelsäure steigen muß mit zunehmender Gabe, bezw. mit der Bildung des sauren Salzes. Diese Voraussetzung wird durch die tatsächlich erhaltenen Resultate der ersten Versuchsreihe bestätigt.

I. Versuchsreihe.

Angewendet je 1 g saures weinsaures Kalium. Berechnete erforderliche Säuremenge für K_2SO_4—260,65 mg, für $KHSO_4$—521,3 mg.

Tabelle 2.

Zusatz von ccm $^n/_2$ H_2SO_4	H_2SO_4 mg	Verbliebene freie Schwefelsäure mg	Gebundene Schwefelsäure mg	Gebundene Schwefelsäure %
2,5 ccm . . . . =	61,3	15,5	45,8	74,71
5,0 „ . . . . =	122,5	23,9	98,6	80,49
9,0 „ . . . . =	220,5	30,2	190,3	86,30
10,5 „ . . . . =	257,2	35,5	221,8	86,24
11,5 „ . . . . =	281,8	35,1	246,7	87,54
20,0 „ . . . . =	490,0	84,6	405,4	82,65
25,0 „ . . . . =	612,5	118,7	493,8	80,62

Wenngleich diese knappe Versuchsreihe nicht genügt, um aus den bestimmten Punkten die gesetzmäßigen Funktionen zu berechnen, so geht doch für die praktische Frage klar daraus hervor:

1. daß selbst bei ganz ungenügendem Säurezusatze (erstes Glied) rund mindestens der vierte Teil der zugesetzten Säure im freien Zustande verblieb,

2. die Menge der gebundenen Säure selbst bei beträchtlichem Überschuß nicht die theoretische Bindungszahl erreicht (letztes Glied),

3. die relative Bindungsmenge der Säure aufsteigend ist bis zur Überschreitung der berechneten Grenze für das neutrale Salz (5. Glied),

4. um dann bei der für das saure Salz sich nähernden Menge prozentual zurückzugehen (6. Glied).

Ferner läßt sich schon auf Grund dieser einfachen Versuchsverhältnisse erkennen, daß die relativen Bindungszahlen, die das Verhältnis der angewendeten zur gebundenen Säure angeben, außerhalb der Proportionalität stehen. Die Zustandsverhältnisse werden mit der Anzahl der Zwischenglieder, selbstredend somit mit der Anzahl der Anfangsglieder an Kompliziertheit zunehmen, ein gleiches Endstadium nur unter genau gleichen Bedingungen erwarten lassen.

Bei der unbekannten und so differenten Zusammensetzung der Maischen können somit nur empirisch festgestellte Durchschnittszahlen zur Anwendung gelangen. Bei nicht zu weiter Überschreitung der Grenzzahlen ist eine Gefahr für die Gärung nicht zu befürchten, da, wie ersichtlich, durch Bildung von sauren Salzen ein größerer Teil der Schwefelsäure unschädlich gemacht wird.

Um jedoch den Einfluß aufsteigender Schwefelsäuremengen auf die Intensität der Gärung bei Gegenwart von Nährstoffüberschuß und bei Gegenwart organischer Salze zu prüfen, wurden die unten folgenden Versuche angestellt. Der direkte Einfluß auf Gärung und Hefe war bereits wiederholt Gegenstand der Prüfung, so von Hayduck, Bokorny und Henneberg. Es wurden von diesen Forschern die Grenzwerte festgestellt für Schädigung der Hefezelle und der Gärung. Die für die praktische Anwendung im Brennereigewerbe statthabenden Momente blieben jedoch unberücksichtigt, so daß eine neuerliche vergleichende Prüfung der Frage von diesem Gesichtspunkte aus wünschenswert erschien.

II. Versuchsreihe.

Vorerst sollte festgestellt werden, bei welcher Aziditätsgrenze in reiner Rohrzuckerlösung mit überschüssigem Nährstoffzusatz eine Schädigung der Gärung eintritt. Zu diesem Zweck wurden je 70 g Rohrzucker und 5 ccm flüssiger Hefeextrakt auf 500 ccm aufgefüllt, sterilisiert und mit gleicher Menge aufgeschwemmter Reinhefe versetzt. Die Gärungsintensität wurde aus dem Gewichtsverluste bestimmt.

Nr. 1 ohne Schwefelsäurezusatz

Nr. 2 mit 2,5 ccm $\frac{n}{1}$ H_2SO_4 (Azidität 0,5 ccm 100 ccm = 24,5 mg)

Nr. 3 „ 5,0 „ „ „ „ 1,0 „ 100 „ = 49,0 „

Nr. 4 „ 7,5 „ „ „ „ 1,5 „ 100 „ = 73,5 „

Nr. 5 „ 10,0 „ „ „ „ 2,0 „ 100 „ = 89,0 „

Tabelle 3.

Gewichtsverlust während des Versuches in g CO_2. (Nach Pasteur 34,335 g.)

Tag	Temperatur °C	Nr. 1 Schwach sauer ohne H_2SO_4	Nr. 2 0,5 ccm Azidität	Nr. 3 1,0 ccm Azidität	Nr. 4 1,5 ccm Azidität	Nr. 5 2,0 ccm Azidität
1	21,5	13,15	7,10	4,12	1,88	0,25
2	20,0	8,82	4,85	3,55	1,70	1,80
3	18,0	5,10	3,45	2,08	1,00	0,62
4	17,2	3,20	2,50	1,55	0,82	0,68
5	16,5	1,97	2,10	1,52	0,68	0,60
6 7	18,0 18,0	2,38	2,95	1,68	0,50	0,51
	Summa	34,62	22,95	14,50	6,58	4,46

Es ergibt sich also, daß die volle Gärungsintensität nur bei Nr. 1, ohne Schwefelsäurezusatz, deren geringe Azidität nur von dem Hefeextrakt herrührt, erzielt wurde. Eine Azidität von 0,5 ccm = 0,024 g H_2SO_4 auf 100 ccm wirkte bereits schädigend.

Mit den von Hayduck gefundenen weit höheren Grenzzahlen stimmt dies nicht überein, doch ist ein direkter Vergleich nicht zulässig, da Hayduck mit unverhältnismäßig großen Mengen von Preßhefe, — 10 g auf 400 ccm —, arbeitete, während hier sehr geringe Mengen von Reinhefe verwendet wurden. Die Empfindlichkeit war somit eine größere[1]).

III. Versuchsreihe.

Der Zweck dieser Versuchsreihe war es zu ergründen wie weit die in I und II gefundenen Resultate in der Gärwirkung bei Gegenwart von organischem Salze, — in diesem Falle von Weinstein —, zur Geltung gelangen.

Je 70 g Rohrzucker mit 1,88 g Weinstein (entsprechend 10 ccm N. Säure im freien und 10 ccm im gebundenen Zustande) wurden unter Zugabe von 10 ccm flüssigem Hefeextrakt auf 500 ccm ergänzt. Die $^1/_{100}$ Molekulareinheit von 1,88 g Weinstein wurde deswegen gewählt, weil diesfalls die Azidität in 100 ccm genau 2 ccm betragen würde. Es verblieben dann 2 ccm gebundene Säure, welche durch 2 ccm N. Schwefelsäure in Freiheit gesetzt werden.

Es wurden vier Gärproben mit den verschiedenen Aziditätsverhältnissen gleichzeitig angestellt. Der Vorgang war derselbe wie bei II beschrieben, nur daß statt Reinhefe der Einfachheit halber je 5 g untergärige Bierhefe verwendet wurden. Außerdem wurde hier noch der gebildete Alkohol bestimmt.

Nr. 1 ohne Schwefelsäure (entsprechend 2 ccm $\frac{n}{1}$ freie organische Säure in 100 ccm).

Nr. 2 mit 5 ccm $\frac{n}{1}$ Schwefelsäure (entsprechend 3 ccm $\frac{n}{1}$ organische Säure + 1,0 ccm gebundene Schwefelsäure).

Nr. 3 mit 10 ccm $\frac{n}{1}$ Schwefelsäure (entsprechend 4 ccm $\frac{n}{1}$ organische Säure + 2,0 ccm gebundene Schwefelsäure).

---

[1]) Die Versuchsanstellungen Bokornys und Hennebergs bezogen sich nur auf die Abtötungs- und Schädigungsgrenzen bei kurzer Einwirkung von Schwefelsäure auf große Mengen von Hefe, verfolgten also eine ganz andere Fragestellung.

Nr. 4 mit 15 ccm $\frac{n}{1}$ Schwefelsäure (entsprechend 4 ccm $\frac{n}{1}$ organische Säure + 2,0 ccm gebundene Schwefelsäure + 1 ccm freie Schwefelsäure).

Tabelle 4.

Gewichtsabnahme in g CO_2. (Nach Pasteur 34,335 g.)

Azidität auf 100 ccm bezogen	Nr. 1 2 ccm organische Azidität	Nr. 2 3 ccm organische Azidität 1 ccm gebundene Schwefelsäure	Nr. 3 4 ccm organische Azidität 2 ccm gebundene Schwefelsäure	Nr. 4 4 ccm organische Azidität 2 ccm gebundene Schwefelsäure 1 ccm freie Schwefelsäure
1. Tag	15,5	9,72	9,68	4,41
2. Tag	15,05	18,48	14,88	6,99
3. Tag	3,65	5,90	6,80	4,80
4. Tag	0,68	0,92	2,60	1,80
Summa	34,83	35,02	33,88	18,00
Alkohol Vol. %	43,93	43,63	42,95	23,25
Ausbeute von 100 g Zucker	62,76	62,33	61,36	33,25

Aus diesen Versuchen geht somit hervor, daß Nr. 1 mit ausschließlich organischer Azidität am raschesten angegoren und die höchste Ausbeute ergeben hat. Allerdings war die Gärung in den weiteren Proben am vierten Tage nicht vollständig beendet.

Nr. 2 und Nr. 3 mit 3 und 4 ccm berechneter freier organischer Säure verloren am ersten Tage fast gleich viel Kohlensäure, am zweiten Tage bleibt Nr. 3 zurück, holt jedoch am vierten Tage Nr. 2 fast ein.

Nr. 4 mit 4 ccm freier organischer Säure und 1 ccm berechneter freier Schwefelsäure ergab ein ungleich schlechteres Gärresultat. Bereits aber durch Nr. 2 wird die Tatsache bestätigt, welche aus Versuch I und II erschlossen werden konnte, nämlich daß die Zustandsverhältnisse zwischen den in Reaktion tretenden Körpern labiler Art sind, so daß selbst bei einem Schwefelsäurezusatze von 50 % unter dem „Neutralisationswerte“ die Ionenwirkung der freien Schwefelsäure physiologisch zur Geltung gelangt, ferner, daß bereits sehr geringe Mengen von freier Schwefelsäure gärungsstörend zu wirken imstande sind.

Aus den Ergebnissen der Versuchsreihe I, erste Zeile ist für den Versuch Nr. 2 der letzten Tabelle, welche jenem ganz nahekommende Aziditätsverhältnisse aufweist, die in 100 ccm enthaltene freie Schwefelsäure auf Grund der Proportionalität auf ungefähr 31 mg zu schätzen, während nach 2 der II. Versuchsreihe bereits 0,5 ccm, d. i. 24,5 mg Schwefelsäure energisch hemmend wirkten.

IV. Versuchsreihe.

Aus der I. Versuchsreihe mußte geschlossen werden, daß unter den gegebenen Bedingungen bei der bezweckten Bildung von K_2SO_4 aus Weinstein von der äquivalenten Menge Schwefelsäure unter Berücksichtigung des gemachten Vorbehaltes mindestens 14 % im freien, also im Ionenzustande verbleiben (Versuch I, 4. Reihe).

Versuch Nr. 3 der III. Versuchsreihe, welches diesem Stadium entspricht, bestätigt die unverkennbare physiologische Wirkung der freien Schwefelsäure, deren hemmende Wirkung an sich aus der II. Versuchsreihe klar hervorgeht.

Sofern die aus dem Experiment sich ergebende Schlußfolgerung zutreffend ist, müßte derselbe Gleichgewichtszustand zu erwarten sein, sobald statt Weinstein und Schwefelsäure die äquivalenten Mengen freie Weinsäure und schwefelsaures Kali (K_2SO_4) in Lösung gebracht würden. Die Empfindlichkeit der Hefenzelle hätte hierfür den besten Maßstab zu bilden.

Es wurden zwei vergleichende Proben gleichzeitig angestellt.

Nr. 1. 70 g Rohrzucker + 10 ccm Hefeextraktfiltrat + 1,88 g Weinstein + 10 ccm $\frac{n}{1}$ H_2SO_4 (entsprechend Nr. 3 der III. Versuchsreihe) wurden auf 500 ccm ergänzt, sterilisiert und mit 5 g untergäriger Bierhefe versetzt.

Nr. 2. 70 g Rohrzucker + Extraktfiltrat + 1,5 g Weinsäure + 0,872 g K_2SO_4 (entsprechend der äquivalenten Menge in Nr. 1) wurden auf 500 ccm ergänzt, sterilisiert und ebenfalls mit 5 g derselben Bierhefe versetzt. Beide Proben wurden bei Zimmertemperatur der Gärung überlassen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 wiedergegeben.

Trotzdem somit im ersten Falle Schwefelsäure, im zweiten Falle Weinsäure verwendet wurde, ist die Gleichmäßigkeit der erzielten Resultate eine ganz auffallende. Zwischen Versuch III und IV konnte allerdings unmöglich die Gärungsintensität eine gleiche sein, nachdem sowohl die Gärtemperaturen als insbesondere die Verschiedenheit der

Bierhefenqualität eine solche ausschlossen. Das maßgebende Endresultat ist jedoch fast das gleiche und entspricht sehr annähernd der theoretischen Voraussetzung, daß das Zustandsverhältnis insbesondere zwischen den beiden letzten Parallelversuchen sehr annähernd dasselbe gewesen sein muß. Andernfalls würde die Gärungsintensität Differenzen aufgewiesen haben, wie sie aus den Versuchsreihen II und III klar zutage treten. Die bei Versuch Nr. 2 (Weinsäure + K_2SO_4) hervortretende günstigere Kohlensäure- und Alkoholzahl ist gegenüber Nr. 1 viel zu unbedeutend, als daß dieselbe nicht innerhalb der zulässigen Fehlergrenze liegend zu betrachten wäre. Doch ist es immerhin möglich, daß die Zustandsverhältnisse bei Nr. 1 und Nr. 2 sich nur annähernd aber nicht vollständig decken.

Tabelle 5.

Gewichtsabnahme in g CO_2.

	Nr. 1 Weinstein + H_2SO_4 4 ccm Azidität	Nr. 2 Weinsäure + K_2SO_4 4 ccm Azidität
1. Tag	0,07	0,06
2. „	5,65	6,80
3. „	14,00	14,50
4. „	8,30	8,30
5. „	4,00	3,40
6. „	1,60	1,10
7. „	0,85	0,45
Summa	34,47	34,61
Alkohol . . .	43,01 Vol. %	43,56 Vol. %
Ausbeute . . .	61,44 Vol. %	62,23 Vol. %

Eine Wiederholung und Erweiterung dieser, wie mir bewußt, ergänzungsbedürftigen Versuche wäre vom erkenntnistheoretischen Standpunkte umso wünschenswerter, als die angewendete analytische und insbesondere biologische Methode zur Erforschung der Zustandsverhältnisse von Salzlösungen einer erweiterten Anwendung fähig scheint. Im vorliegenden Falle erwies sich die Hefenzelle als scharfer Maßfaktor der geprüften Gleichgewichtsverhältnisse.

Aber auch vom praktischen Standpunkte sind die Ergebnisse der Versuche nicht ohne Interesse. Wie schon die Tabelle 1 beweist, ist es kaum zu erwarten, daß eine mit Schwefelsäure gesäuerte Maische

die gesamte Säure im gebundenen Zustande enthalten kann, während andererseits durch die Bildung saurer Salze, selbst bei stärkerem Säurezusatze, sofern derselbe nicht die durch das Bindungsvermögen der basischen Bestandteile gezogenen Grenzen weit überschreitet, die Gefahr einer schädlichen Wirkung der Schwefelsäure vermieden wird. Auch der variable Gehalt der Maische an alkalischen Erden, zum Teil auch aus dem Wasser zum Teil aus den erdigen Verunreinigungen herrührend, wird das Maß der freiwirkenden Schwefelsäure beeinflussen.

Zweifellos wird, wie aus Tabelle II hervorgeht, die geringste Überschreitung der zulässigen Schwefelsäuremenge eine sofortige Verlangsamung der Gärung bewirken und die Gefahr erkennen lassen. Sank doch bereits bei 0,0245 % freier Schwefelsäure (0,1° Delbrück) die Gärungsintensität am ersten Tage um fast die Hälfte. Diese geringe Säuremenge kann aber unmöglich eine Schädigung der Schlempe für Mastzwecke oder eine Gefahr für die Apparatur herbeiführen.

Zur Prüfung der tatsächlichen Bestätigung der auf synthetischem Wege gewonnenen Ergebnisse wurde eine, durch den Transport allerdings bereits in Gärung befindliche Maismaische mit aufsteigenden Mengen ½ N. H_2SO_4 versetzt, mit Seesand getrocknet und mit Alkohol von 96½ % extrahiert. Die Lösung wurde mit etwas Wasser versetzt, der Alkohol verdunstet, nochmals filtriert und die Schwefelsäure in der salzsauren Lösung mit $BaCl_2$ gefällt.

Die Grenze für den Säurezusatz betrug gemäß der Bauerschen Tabelle 3 ccm N. H_2SO_4 p. 100 ccm.

Das Ergebnis war folgendes:

	mg H_2SO_4	Gewogenes $BaSO_4$	Somit freie Säure	% der zugesetzten Säure
100 ccm Maischfiltrat + 2 ccm ½ H_2SO_4	= 49	— 2 mg	= 0,8 mg	= 1,6 %
100 „ „ + 4 „ „ „	= 98	— 3 „	= 1,2 „	= 1,22 „
100 „ „ + 6 „ „ „	= 137	— 6 „	= 2,5 „	= 1,82 „
100 „ „ + 8 „ „ „	= 196	— 7 „	= 2,9 „	= 1,47 „

Die Menge der freien Säure ist also so gering, daß sie praktisch gar nicht in Betracht kommt.

Dieser vorläufige Versuch, der wegen Mangel an Material und anderweitiger Inanspruchnahme bisher nicht ergänzt werden konnte und ebenfalls auf Kartoffelmaischen zu erstrecken wäre, möge nur als vorläufiges Ausführungsbeispiel Erwähnung gefunden haben.

Vorläufige Mitteilung über das Verhalten von Hefen und Schimmelpilzen zu Natriumthiosulfat.

Von **Alexander Kossowicz** und **Walter Loew.**

Die von uns untersuchten Hefen: Saccharomyces ellipsoideus I H., Sacch. cerevisiae I H., Sacch. apiculatus, Weinhefe Johannisberg II, Hefe Rasse XII und Schizosaccharomyces mellacei vermögen Thiosulfat unter Schwefelwasserstoffbildung als Schwefelquelle zu benutzen. Schimmelpilze assimilieren ebenfalls Thiosulfat, verhalten sich aber sonst zu Thiosulfat recht verschieden. Botrytis Bassiana, Cladosporium herbarum, Penicillium brevicaule, Aspergillus glaucus, Isaria farinosa und Fusisporium assimilieren Natriumthiosulfat direkt ohne Bildung von Schwefelwasserstoff, von Schwefelsäure und ohne Schwefelablagerung; eine merkliche Oxydation von Thiosulfat zu Polythionat (Tetrathionat) tritt nicht ein. Mucor γ Boidin entwickelt in thiosulfathaltigen Nährlösungen Schwefelwasserstoff. Penicillium glaucum und Aspergillus niger bilden je nach den Versuchsbedingungen Polythionate oder Schwefelsäure und scheiden dann zugleich Schwefel in einzelnen Pilzfäden ab. In Nährlösungen mit 10 % Thiosulfat zeigten alle Schimmelpilze gute Entwicklung. Auch in Nährlösungen mit 40 % Natriumthiosulfat kamen alle untersuchten Schimmelpilze, außer Mucor Boidin, A. glaucus und A. niger, zu einer guten Entwicklung und Fruktifikation.

Die Verwendung von Milchsäure und Milchsäurebakterien bei der Gurkensäuerung.

Von **Alexander Kossowicz.**

Im Anschlusse an meine Untersuchungen[1]) über das Weichwerden, die Schaumgärung der eingesäuerten Gurken und die Laboratoriumsversuche über die Anwendung von Milchsäurebakterien-Reinzuchten zur Gurkensäuerung wurden unter meiner Leitung auch umfangreichere Ver-

[1]) A. Kossowicz, Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Österreich, Bd. 11, 1908, S. 894, Bd. 12, 1909, S. 757 und Einführung in die Mykologie der Nahrungsmittelgewerbe, Berlin 1911, S. 96.

suche über diese Verwendung von Milchsäure und Milchsäurebakterien in der Praxis ausgeführt, die recht befriedigende Resultate ergaben.

Nebst der Beschaffenheit der Gurken selbst (hohle, bittere Gurken), sind für fehlerhafte Gärungen, z. B. das Weichwerden der Gurken, Mikroorganismen verantwortlich zu machen und zwar kommen nach Aderholds[1]) Untersuchungen hauptsächlich Bacterium coli, nach meinen Befunden Bakterien der Mesentericus-Gruppe und wohl auch Fluoreszenten in Betracht. Auf die Antibiose zwischen Coli- und Milchsäurebakterien hat erst kürzlich O. Gratz[2]) hingewiesen, dem zufolge die Vermehrung der Coli-Aerogenes-Stämme durch 0,3 % Milchsäure gewöhnlich unterdrückt wird, den entwicklungshemmenden Einfluß von Milchsäure auf Bakterien der Mesentericus-Gruppe (Kartoffelbakterien) hat Tillmans[3]) deutlich betont; bei einer Milchsäurekonzentration von 0,2 % kam die Entwicklung dieser Bakterien zum Stillstande. Untersuchungen, die von mir, zum Teil gemeinsam mit Herrn Militärunterintendanten L. v. Gröller, ausgeführt wurden, ergaben, daß Bacillus mesentericus vulgatus, B. mesentericus fuscus, B. mesentericus ruber und B. mesentericus niger in 0,2 % Milchsäure enthaltenden mineralischen Asparaginzuckerlösungen und in Gurkensaft mit gleichem Milchsäuregehalt (Versuchsdauer 30 Tage, Versuchstemperatur 15—20° C) eine sehr langsame und schwache Entwicklung zeigten, in rein mineralischen Zuckerlösungen gar nicht zu einer merklichen Entwicklung kamen, und bei 0,3 % Milchsäure auch in den zuerst genannten Nährböden ihre Entwicklung einstellten. Diese Konzentration wirkt auch auf Fluoreszenten und andere Bakterien stark entwicklungshemmend.

Bei Gurkensäuerungen im großen wird schon lange eine Art Impfmethode in Anwendung gebracht, indem man frischen Säuerungen den Saft gut gesäuerter Gurken zusetzt. Selbstverständlich hängt es hier ganz von nicht weiter zu beeinflussenden Faktoren, „vom Zufall“ ab, wie sich der weitere Konkurrenzkampf der Mikroorganismen gestaltet, der über die Güte der Säuerung entscheidet.

Soweit sie eine Verallgemeinerung erlauben, sollen die von mir bezüglich der Anwendung von Milchsäure und Milchsäurebakterien bei der Gurkensäuerung gemachten Erfahrungen hier mitgeteilt werden.

1. Ein Zusatz von Milchsäure zu dem für die Säuerung bestimmten, abgekochten Wasser vermag die Säuerung auch ohne Verwendung von

---

[1]) R. Aderhold, Landw. Jahrb., Bd. 28, 1899, S. 127; Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 5, 1899, S. 513; Lafars Handbuch der technischen Mykologie, Bd. 2, S. 328.

[2]) O. Gratz, Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. I, 1912, S. 256.

[3]) J. Tillmans, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrgs.- u. Genußmittel, Bd. 5, 1902, S. 737.

Milchsäurebakterien-Reinzuchten günstig zu beeinflussen und zwar soll das Wasser auf einen Gehalt von 0,4—0,5 % Milchsäure gebracht werden, der dann durch den Gurkensaft wesentlich heruntergedrückt wird.

2. Zur Gurkensäuerung eignen sich nicht bloß Reinzuchten von aus Gurkensäuerungen isolierten Milchsäurebakterien, sondern auch solche aus anderen Gemüsesäuerungen (z. B. Kraut, Zwiebeln usw.) und aus Molkereiprodukten. Es ergeben sich wohl Unterschiede insbesondere bezüglich des Säuerungsgrades, doch sind sie von keiner wesentlichen Bedeutung und viel mehr von der Menge der eingeführten Reinzucht und dem Mikroorganismengehalt (in quantitativer und qualitativer Beziehung) der Gurken, als von der gewählten Milchsäurebakterie abhängig; die geschmacklichen Unterschiede, auf die es hauptsächlich ankommen würde, sind sehr veränderlich und überhaupt sehr schwer zu bestimmen.

3. Die Milchsäurebakterien müssen vor ihrer Verwendung meist einer Vorkultur unterworfen werden, zu welchem Zwecke die Nährlösung mit steigenden Zusätzen von sterilem Gurkensaft versetzt wird; so bringt man die Bakterie z. B. in Molke, Schotten oder dergleichen mit $^1/_3$ Gurkensaft, dann mit $^1/_2$ Gurkensaft, zuletzt in reinen Gurkensaft. Bei manchen Bakterien, z. B. Bact. Güntheri sind eine weitere Abstufung und häufigere Überimpfung erforderlich.

4. Bei der Wahl der Milchsäurebakterie ist darauf Rücksicht zu nehmen, ob die Säuerung in der Wärme oder, wie das von mir empfohlen wurde, in der Kälte (bei niederen Temperaturen, unter + 15° C) ausgeführt werden soll.

5. Die Bakterienreinzucht soll dem zur Säuerung bestimmten Wasser zugesetzt werden, weil in diesem Falle am besten gleich anfangs eine entsprechende Verteilung der Mikroben in dem zu säuernden Material stattfindet.

6. Es ist notwendig, gleich zu Beginn der Säuerung eine größere Menge der Milchsäurebakterie einzuführen; man kann ungefähr 5 ccm einer gut entwickelten Zucht in Gurkensaft auf ca. 15—20 kg Gurken rechnen.

7. Auch bei Anwendung von Milchsäurebakterien-Reinzuchten bei der Gurkensäuerung ist ein Zusatz von Milchsäure zu empfehlen (ca. 0,1 %), der aber bei Einführung einer größeren Menge der Reinzuchtbakterie entfallen kann.

8. Mit Mischzuchten, die aus Weinhefe und Milchsäurebakterien bestanden, wurden manchmal recht gute, im Geschmack und Geruch allerdings meist etwas abweichende Gurkensäuerungen erzielt. Werden beide Organismen getrennt, zu verschiedenen Zeiten, eingebracht, so soll der Zusatz von Milchsäurebakterien vorausgehen.

Die Zersetzung von Harnstoff, Harnsäure, Hippursäure und Glykokoll durch Schimmelpilze.

3. Mitteilung[1]).

Von **Alexander Kossowicz.**

Zu den hier mitgeteilten Versuchen wurden die nachfolgenden Pilze herangezogen: Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum, Mucor γ Boidin, Cladosporium herbarum, Phytophthora infestans, Penicillium brevicaule, Aspergillus glaucus, Aspergillus niger, Isaria farinosa und ein roten Farbstoff bildendes Fusisporium (Fusarium). In Verwendung kamen wie zu allen früheren Versuchen Erlenmeyerkölbchen aus Jenaer Kaliglas, die mit je 50 ccm steriler Nährlösung beschickt wurden. Die im Titel genannten Verbindungen wurden in entsprechender Menge jedem einzelnen Erlenmeyerkölbchen besonders zugewogen. Die Übertragung der Pilze in die Versuchskolben geschah aus gut entwickelten Reinzuchten auf in Eprouvetten befindlichen Kartoffelstreifen. Versuchsdauer 6 Wochen. Versuchstemperatur ca. 20° C.

I. Harnstoff als alleinige Kohlenstoff- und gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle.

1. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g Harnstoff, 1 g KNO_2, 1 g NH_4NO_3, 0,5 g NH_4Cl, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$. Die zehn Pilze kamen darin nicht zur Entwicklung.

2. Versuch. Die Nährlösung war wie folgt zusammengesetzt: 1000 ccm destilliertes Wasser, 6 g Harnstoff, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$. Die zehn Pilze zeigten keine Entwicklung.

3. Versuch. Die Nährlösung bestand aus: 1000 ccm destilliertes Wasser, 1 g Harnstoff, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaSO_4$

[1]) S. auch Zeitschrift für Gärungsphysiologie, 1912, Bd. 1, S. 60, 121, 317 und Bd. 2, S. 51, dort auch die einschlägige Literatur.

und $FeCl_3$. Abgesehen von einer geringfügigen Flockenbildung in den Zuchten von Penicillium brevicaule und Fusisporium kam es in dieser Nährlösung zu keiner Entwicklung der Schimmelpilze.

Nach den hier mitgeteilten Versuchen wäre die Schlußfolgerung berechtigt, daß die von mir untersuchten Schimmelpilze, wenigstens unter den von mir beobachteten Versuchsbedingungen Harnstoff als alleinige Kohlenstoffquelle und natürlich auch als alleinige gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle nicht verwerten können. Der Befund von Klebs[1]) bezüglich der Verwendbarkeit von Harnstoff als gemeinsame alleinige Kohlenstoff- und Stickstoffquelle für Saprolegnia bedarf der Nachprüfung unter geänderten Versuchsbedingungen; mir stand dieser Pilz nicht zur Verfügung.

2. Harnsäure als alleinige Kohlenstoff- und alleinige gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle.

1. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g Harnsäure, 1 g KNO_2, 1 g NH_4NO_3, 0,5 g NH_4Cl, 0,5 g $MgSO_4$, 0,5 g KH_2PO_4, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$.

2. Versuch. Die Nährlösung war wie folgt zusammengesetzt: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g Harnsäure, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$.

In beiden Versuchen zeigten von den untersuchten Pilzen Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum, Mucor γ Boidin, Phytophthora infestans, Aspergillus glaucus und Isaria farinosa deutliche, ziemlich gute Entwicklung, in der zweiten Versuchsreihe kräftige Ammoniakbildung. Diese Pilze vermögen also jedenfalls Harnsäure auch als alleinige Kohlenstoff- und unter Ammoniakbildung als alleinige gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle auszunützen.

3. Hippursäure als alleinige Kohlenstoff- und alleinige gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle.

1. Versuch. Die Nährlösung bestand aus: 1000 ccm Leitungswasser, 4 g Hippursäure, 1 g KNO_2, 1 g NH_4NO_3, 0,5 g NH_4Cl, 0,5 g K_2HPO_4, 0,5 g $MgSO_4$.

2. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g Hippursäure, 0,5 g KNO_2, 2 g NH_4Cl, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$.

---

[1]) G. Klebs, Jahrb. f. wissensch. Botanik, Bd. 33, 1899, S. 513.

3. Versuch. Die Nährlösung war wie folgt zusammengesetzt: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g Hippursäure, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$.

4. Versuch. Die Nährlösung enthielt nur 2 g Hippursäure, war sonst im übrigen wie im 3. Versuch zusammengesetzt.

5. Versuch. Die Nährlösung war wie im 3. Versuch zusammengesetzt, enthielt aber nur 1 g Hippursäure.

In allen fünf Versuchen zeigten eine sehr gute Entwicklung (meist auch Fruktifikation): Botrytis Bassiana (rosenrote Färbung der Nährlösung), Penicillium glaucum, Cladosporium herbarum, Phytophthora infestans, Aspergillus glaucus, Aspergillus niger (gelblichbraune Färbung der Nährlösung), Isaria farinosa und Fusisporium; hingegen wiesen Mucor Boidin und Penicillium brevicaule nur geringfügige Flockenbildung auf.

In den Nährlösungen, die nur Hippursäure als gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle enthielten, zeigten alle oben genannten Pilze kräftige Ammoniakbildung.

Jedenfalls sind diesen Versuchen zufolge zahlreiche Pilze befähigt, Hippursäure auch als alleinige Kohlenstoff- und alleinige gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle zu verarbeiten.

4. Glykokoll als alleinige Kohlenstoff- und alleinige gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle.

1. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g Glykokoll, 1 g KNO_2, 1 g NH_4Cl, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$.

2. Versuch. Die Nährlösung war wie folgt zusammengesetzt: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g Glykokoll, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$.

In allen Versuchskolben trat gute Entwicklung und Ammoniakbildung auf.

Alle zehn eingangs erwähnten Pilze zeigten gute Entwicklung und Fruktifikation. Sie vermögen also Glykokoll auch als alleinige Kohlenstoff- und alleinige gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle unter Ammoniakbildung auszunützen.

Über die Verwendbarkeit von Harnstoff und Harnsäure als Kohlenstoffquellen werden noch weitere Untersuchungen ausgeführt.

Die Assimilation von Guanin und Guanidin durch Schimmelpilze.

1. Mitteilung.

Von **Alexander Kossowicz.**

Guanin ist ein wichtiger Bestandteil des wertvollen Düngemittels Guano, Guanidin entsteht nach Ulpiani u. Cingolani[1]) durch Bakterientätigkeit aus dem Guanin und wurde von vielen Forschern auch in verschiedenen Käsesorten angetroffen[2]). Untersuchungen über das Verhalten von Mikroorganismen zu diesen zwei Verbindungen bieten abgesehen vom rein physiologisch-botanischen auch einiges Interesse vom landwirtschaftlich-bakteriologischen und im Hinblick darauf, daß Guanin als Bestandteil der Bakterienzelle und der Hefen aufgefunden wurde, auch vom gärungsphysiologischen Standpunkte[3]). Bezüglich des Verhaltens von Schimmelpilzen zu Guanin und Guanidin besitzen wir nur sehr wenige vereinzelte Befunde[4]). So hat Czapek[5]) festgestellt, daß Aspergillus niger salzsaures Guanidin als Stickstoffnahrung verwerten kann. Dieser Befund wurde kürzlich für diesen Pilz von K. Puriewitsch[6]) bestätigt. Bei Einbringung von Erde in Nährlösungen, die Guanidin carbonic. enthielten, konnte Bierema[7]) keine Entwicklung von Schimmelpilzen wahrnehmen, dagegen zeigte sich[8]) in

[1]) C. Ulpiani und M. Cingolani, Atti della Accad. dei Lincei, Roma, t. 14, 1905, p. 596. Ref. im Centralbl. f. Bakt. 2. Abt. Bd. 18, 1907, S. 528.

[2]) F. Löhnis, Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie, 1910, S. 359. Dort die weitere Literatur.

[3]) Lafars Handbuch der Technischen Mykologie, Bd. 1, S. 246, 249, 253.

[4]) Bez. des Verhaltens der Bakterien und Hefen zu Guanin und Guanidin verweise ich auf W. Kruse, Allgemeine Mikrobiologie, 1910, S. 594, E. Duclaux, Traité de Microbiologie, t. 3, S. 2, H. Pringsheim, Biochemische Zeitschrift, Bd. 3, 1907, S. 121 und A. Guillermond, Les Levures, Paris, 1912, p. 113 und 114.

[5]) F. Czapek, Hoffmeisters Beiträge zur chem. Phys. und Path. 1912, Bd. 1, S. 538 u. Bd. 2, S. 547.

[6]) K. Puriewitsch, Biochemische Zeitschrift, Bd. 38, 1912, S. 13.

[7]) St. Bierema, Centralbl. f. Bakt. 2. Abt., Bd. 23, 1909, S. 678.

[8]) St. Bierema, a. a. O. S. 709.

seinen weiteren Versuchen außer Bacterium putidum und Streptothrix odorifera auch Ustilago longissima in Reinkultur zur Assimilation und Zersetzung des Guanidinkarbonats (mit Kalziumlaktat als Kohlenstoffquelle) befähigt.

Meine Versuche wurden im Erlenmeyerkölbchen aus Jenaer Kaliglas, die je 50 ccm der sterilisierten Nährlösung enthielten, mit den nachfolgenden Pilzen ausgeführt: Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum, Mucor γ Boidin, Cladosporium herbarum, Phytophthora infestans, Penicillium brevicaule, Aspergillus glaucus, Aspergillus niger, Isaria farinosa und Fusisporium. Guanin und Guanidin wurden in die einzelnen Erlenmeyerkölbchen getrennt eingewogen und blieben größtenteils ungelöst. Versuchsdauer 4 Wochen, Versuchstemperatur ca. 20° C.

I. Guanin als Stickstoffquelle.

1. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 2 g Guanin, 10 g Dextrose, 10 g Saccharose (reinst), 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$. Alle oben genannten Schimmelpilze zeigten gute Entwicklung.

2. Versuch. Die Nährlösung war wie folgt zusammengesetzt: 1000 ccm destilliertes Wasser, 3 g Guanin, 10 g Mannit, 0,5 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$. Alle oben angeführten Pilze kamen zu einer deutlichen aber schwachen Entwicklung und zeigten Ammoniakbildung. In den Kontrollkolben war Ammoniak nicht nachweisbar.

Alle von mir untersuchten Pilze vermögen Guanin als Stickstoffquelle zu verwerten.

2. Guanidin carbonicum, Guanidin hydrochloricum, Guanidin nitricum und Guanidin rhodanatum als Stickstoffquellen.

1. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 2 g Guanidin carbonicum, 10 g Dextrose, 10 g Saccharose (reinst), 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$.

2. Versuch. Die gleiche Nährlösung wie im 1. Versuch, jedoch mit 2 g Guanidin hydrochloricum.

3. Versuch. Die gleiche Nährlösung wie im 1. Versuch, jedoch mit 2 g Guanidin nitricum.

4. Versuch. Die gleiche Nährlösung wie im 1. Versuch, jedoch mit 1 g Guanidin rhodanatum.

5. Versuch. Die Nährlösung war wie folgt zusammengesetzt: 1000 ccm destilliertes Wasser, 2 g Guanidin carbonicum, 10 g Mannit, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$.

In diesen fünf Versuchen zeigten Aspergillus glaucus und Cladosporium herbarum (das sich immer sehr langsam entwickelt) schwache, die übrigen acht Pilze gute Entwicklung und Ammoniakbildung, sie vermögen also jedenfalls Guanidin-Verbindungen als Stickstoffquelle zu verwerten.

3. Guanin als alleinige Kohlenstoff- und alleinige gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle.

1. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 2 g Guanin, 1 g $(NH_4)_2$ HPO_4, 0,5 g NH_4NO_3, 0,5 g NH_4Cl, 0,5 g $MgSO_4$, 0,5 g KH_2PO_4, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$. Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum, Phytophthora infestans und Isaria farinosa zeigten in dieser Nährlösung eine gute, Cladosporium herbarum und Fusisporium eine schwache Entwicklung, die übrigen vier Pilze, abgesehen von geringfügigen Flockenbildungen, keine Entwicklung.

2. Versuch. Die Nährlösung war wie folgt zusammengesetzt: 1000 ccm destilliertes Wasser, 2 g Guanin, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$, eine Spur $CaSO_4$ und $FeCl_3$. Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum, Phytophthora infestans und Isaria farinosa kamen in dieser Nährlösung zu einer guten Entwicklung und zeigten kräftige Ammoniakbildung, Cladosporium herbarum und Fusisporium wiesen eine schwächere Entwicklung mit deutlicher Ammoniakbildung auf.

Aus den hier mitgeteilten Versuchen geht also hervor, daß Guanin von Schimmelpilzen als Kohlenstoff- und als Stickstoffquelle unter Ammoniakbildung verwertet werden kann.

Über die Verwendbarkeit von Guanidin-Verbindungen als alleinige Kohlenstoff- und gemeinsame Kohlenstoff- und Stickstoffquelle wird eine zweite Mitteilung Näheres bringen. Vorläufig sei nur erwähnt, daß in Nährlösungen mit Guanidin carbonic. als Stickstoffquelle (bei meist alkalischer Reaktion der Nährlösung) bisher, abgesehen von geringfügigen Flockenbildungen, nur negative Resultate erhalten wurden.

Über das Verhalten von Hefen und Schimmelpilzen zu Natriumthiosulfat.

Von **Alexander Kossowicz** und **Walter Loew.**

In Nägelis[1]) im Jahre 1882 erschienenen Untersuchungen über niedere Pilze finden wir auch die ganz allgemein gehaltene, kurze Angabe, daß „Schimmelpilze“ auch schwefligsaure und unterschwefligsaure Salze assimilieren. Holchewnikoff[2]) berichtet im Jahre 1889 über eine Reduktion von Natriumhyposulfit (0,5prozentige Lösung) unter Bildung von Schwefelwasserstoff in saurer Lösung bei Luftzutritt durch eine Proteus-Art; diese Zersetzung blieb in neutraler Lösung bei Luftausschluß aus. Hingegen zeigte in Holchewnikoffs Versuchen eine andere Bakterie, Bacterium sulfureum, eine Reduktion von Natriumhyposulfit in saurer Lösung bei Luftabschluß. Auch Petri und Maaßen[3]) fanden mehrere Bakterien befähigt, aus Natriumthiosulfat Schwefelwasserstoff zu entwickeln. Auf die Schwefelwasserstoffbildung aus Thiosulfat durch Hefen machte Beijerinck[4]) aufmerksam. Das Verhalten von B. desulfuricans und B. coli zu Thiosulfat wurde von Saltet[5]) geprüft. Im Jahre 1902 gelang es Nathanson[6]), Natrium-

---

[1]) Nägeli, Unters. über niedere Pilze, München und Leipzig, 1882, S. 67.

[2]) Holchewnikoff, Fortschritte der Medizin, Bd. 7, 1889, S. 201.

[3]) R. J. Petri und A. Maaßen, Arbeiten des Kaiserl. Gesundheitsamtes Berlin, Bd. 8, 1893, S. 348.

[4]) M. W. Beijerinck, Centralblatt für Bakteriologie, 2. Abt., Bd. 6, 1900, S. 194. Th. Bokorny (Centralbl. f. Bakt. 2. Abt., Bd. 35, 1912, S. 141) hat nach Fertigstellung unserer Arbeit über zwei von ihm ausgeführte Versuche mit Natriumthiosulfat und Hefen berichtet, in denen stets auch Bakterien zahlreich aufkamen. Er gebrauchte Nährlösungen mit 0,5 % und 1 % $Na_2S_2O_3$. Bokorny bemerkte schwachen Schwefelwasserstoffgeruch, dessen Entstehung er aber den in der Nährlösung enthaltenen Bakterien zuschreibt. Wie schon von uns in einer vorläufigen Mitteilung erwähnt wurde (Zeitschr. f. Gärungsphysiologie Bd. 2, 1912, S. 78) und hier eingehender ausgeführt wird, sind aber auch Hefen selbst, zur Schwefelwasserstoffbildung aus Natriumthiosulfat befähigt.

[5]) R. H. Saltet, Centralbl. f. Bakt. 2. Abt., Bd. 6, 1900, S. 701.

[6]) Nathanson, Mitteil. der zoolog. Station in Neapel, Bd. 15, 1902, S. 655.

thiosulfat assimilierende Bakterien, die auch zur Assimilation der Kohlensäure befähigt waren, in Reinkultur zu erhalten. Er nimmt an, daß die Oxydation des Thiosulfats nicht bis zur Schwefelsäure, nach der Gleichung:

$$Na_2S_2O_3 + H_2O + 4\,O = Na_2SO_4 + H_2SO_4$$

vor sich geht, weil die Alkalinität der Nährlösung unverändert blieb, sondern nur bis zur Di- oder Tri- oder Tetrathionsäure fortschreitet, nach der Gleichung:

$$3\,Na_2S_2O_3 + 5O = 2\,Na_2SO_4 + Na_2S_4O_6.$$

Die Bakterien lagern hierbei in den Zellen keinen Schwefel ab. Doch scheidet sich um die Bakterienkolonien und auf der Oberfläche der Nährlösung elementarer Schwefel ab. Nathanson faßt die Schwefelabscheidung als einen sekundären Prozeß auf.

Auch Beijerinck[1]) konnte zwei Jahre später derartige „Thiobazillen" isolieren. Beijerinck nimmt an, daß der Schwefelumsatz durch diese Bakterien nach der Gleichung erfolge:

$$Na_2S_2O_3 + O = Na_2SO_4 + S.$$

Nach O. Loew[2]) übt eine 1prozentige Thiosulfatlösung keine Giftwirkung auf Wasserbakterien aus.

Mit dem Verhalten von Schimmelpilzen zu Thiosulfaten (Natrium- und Kaliumthiosulfat) hat sich Raciborski[3]) eingehend beschäftigt. Da unsere hier mitgeteilten Befunde von denen Raciborskis in manchen Punkten abweichen, sie wieder anderseits bestätigen und ergänzen, sollen die Feststellungen dieses Forschers hier näher angeführt werden.

Wie Raciborski hervorhebt, keimen die Sporen verschiedener Pilze in zweiprozentiger $Na_2S_2O_3$-Lösung aus. Asp. niger kam in seinen Versuchen auch in Nährlösungen, die bis 30% $Na_2S_2O_3$ enthielten, zur Entwicklung, zeigte aber keine Fruktifikation. Er fand, daß sich bei diesem Pilz in den wachsenden Hyphenenden und den emporwachsenden Sporenträgern zahlreiche Schwefeltropfen ansammeln, die das weitere Wachstum, die Weiterentwicklung hindern, so daß die vereinzelten Sporenträger es zu keiner köpfchenartigen Anschwellung bringen.

Erwähnt sei nebenbei, daß der eine von Raciborski gebrauchte Nachweis der Schwefelnatur der glänzenden Kügelchen in den Hyphen, der darin besteht, daß die Hyphen in Kalziumnitratlösung gebracht und

[1]) M. W. Beijerinck, Centralblatt für Bakteriologie, 2. Abt., Bd. 11, 1904, S. 593.
[2]) O. Loew, Ein natürliches System der Giftwirkungen, München 1893, S. 105.
[3]) M. Raciborski, Anzeiger der Akademie der Wissenschaften in Krakau, math. nat. Kl. 1905, S. 764.

dann Bromwasser zugefügt wird, nicht ganz einwandfrei erscheint, weil auch das sehr schwer zu entfernende Thiosulfat durch Bromwasser oxydiert wird und zur Gipsbildung Veranlassung geben kann.

Der Hauptversuch Raciborskis wurde mit Asperg. niger unter Anwendung einer 2prozentigen Kaliumthionatlösung ausgeführt, die aber schon nach der Sterilisation (nach Br. Niklewski, der die chemische Untersuchung ausgeführt hat) Schwefel-, Sulfit- und Sulfatspuren enthielt. Br. Niklewski, dem die chemische Untersuchung der Kulturflüssigkeit oblag, fand in der 12 Tage alten Zucht des Aspergillus niger, der eine kompakte, sterile weißgelbe Decke aufwies, außer reichlichen Mengen von noch unzersetztem Thiosulfat noch eine kräftige extrazellulare Schwefelablagerung, schweflige Säure (bezw. Sulfit) und Schwefelsäure vor. Tetrathionat konnte hingegen von ihm nicht nachgewiesen werden. Raciborski hat dann noch weitere Pilze, ohne aber auch ihre Kulturen einer chemischen Analyse zu unterwerfen, auf ihr Verhalten zu Natriumthiosulfat geprüft. Er fand Schwefelabscheidung und extrazelluläre Abscheidung von Schwefel bei allen von ihm untersuchten Pilzen, d. s. Basidiobolus ranarum, Thamnidium elegans, Phycomyces nitens, Mucor pyriformis, Rhizopus nigricans, Botrytis cinerea, Penicillium crustaceum und Aspergillus niger. Interzellulare Schwefeleinlagerung wiesen nur auf: Rhizopus nigricans, Botrytis cinerea, Penicillium crustaceum und Asperg. niger, nicht aber die vier erstgenannten Schimmelpilze. Eine Bildung von Tetrathionat wurde bei diesen Pilzen von Raciborski (bezw. Niklewski) nicht wahrgenommen.

Sasaki und Ichiro Otsuko[1]) konnten kürzlich gleichfalls bei vielen pathogenen Bakterien die Fähigkeit zur Entwicklung von Schwefelwasserstoff aus Thiosulfat nachweisen. Der Vollständigkeit wegen sei noch erwähnt, daß Lidfores[2]) eine starke chemotaktische Wirkung des Natriumthiosulfats bei einem Thiospirillum beobachtet hat.

Die reduzierende Wirkung des Hefepreßsaftes auf Schwefel und Thiosulfat wurde von Hahn[3]) nachgewiesen.

Wie aus den vorangehenden Darlegungen hervorgeht, verhielten sich in den Versuchen von Raciborski die Schimmelpilze zu Thiosulfat recht verschieden. Nur von der Kultur eines dieser Pilze (Asp. niger) wurde eine nähere Analyse der Schwefelverbindungnn gegeben. Schon

---

[1]) Sasaki Takaoki und Ichiro Otsuko, Biochemische Zeitschrift, Bd. 39, 1912, S. 208.

[2]) B. Lidfores, Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft, Bd. 30, 1912, S. 262.

[3]) Buchner und M. Hahn, Die Zymasegärung, 1903. S. 341.

die sterilisierte unbeimpfte Kontrollelösung Raciborskis enthielt außer Thiosulfat (Kaliumthiosulfat) noch Schwefel und andere Schwefelverbindungen, so daß es nicht nur von Interesse erschien, auch andere bisher daraufhin noch nicht untersuchte Pilze zu ähnlichen Versuchen heranzuziehen, sondern auch noch die physiologisch gewiß dankbare Frage zu lösen war, ob und in welcher Weise Schimmelpilze und Sproßpilze (Hefen) Thiosulfat überhaupt zu assimilieren vermögen, denn abgesehen von der eingangs erwähnten Angabe Nägelis lagen bisher darüber keinerlei Versuche vor. Tatsächlich gelangten wir auch gelegentlich unserer weiter unten zu besprechenden Versuche zu Befunden, die manches Neue und Unerwartete brachten.

I. Das Verhalten der Hefen zu Natriumthiosulfat.

Zu den Versuchen wurden auf Würzeagar gezüchtete Reinzuchten der nachfolgenden Hefen[1]) verwendet: Saccharomyces ellipsoideus I H., Saccharomyces cerevisiae I H., Saccharomyces apiculatus, Weinhefe Johannisberg II, Hefe Rasse XII und Schizosaccharomyces mellacei.

1. Versuch. Eine sterile Nährlösung von der Zusammensetzung 1000 ccm dest. Wasser, 3 g $Na_2S_2O_3$, 20 g Dextrose, 2 g Mannit, 0,5 g KH_2PO_4, 0,2 g $MgCl_2$, 2 g NH_4Cl, 1 g KNO_2, eine Spur $FeCl_3$ und $CaCO_3$ zu 50 ccm in Erlenmeyerkölbchen verteilt, wurde mit einer Spur der oben angeführten Hefen geimpft. Die Versuchsdauer betrug 3 Wochen, die Versuchstemperatur ca. 20° C. Nach Verlauf von 2 Wochen zeigten Saccharomyces apiculatus und Schizosaccharomyces mellacei schwache, die anderen ziemlich gute Entwicklung (Depotbildung). Nach Verlauf von 3 Wochen boten die Hefen ungefähr das gleiche Aussehen. In der Nährlösung konnte weder das Vorhandensein von Schwefelsäure, noch (mit Hilfe von Bleipapier) das von Schwefelwasserstoff nachgewiesen werden, auch wurde keine Schwefelabscheidung bemerkt.

Die nach Verlauf von 3 Wochen ausgeführte Titration mit $\frac{n}{100}$ Jodlösung ergab in je 10 ccm der Nährlösung den folgenden Verbrauch von $\frac{n}{100}$ Jodlösung, aus dem sich die von den Hefen verbrauchte Menge an $Na_2S_2O_3$ berechnen läßt: Unbeimpfter Kontrollkolben 10 ccm $\frac{n}{100}$ Jodlösung, Sacch. ellipsoideus I H. 8 ccm, Sacch. cerevisiae I H.

[1]) Die von uns verwendeten Hefen wurden aus dem Kralschen Laboratorium bezogen.

9,4 ccm, Saccharomyces apiculatus 9,9 ccm, Weinhefe Johannisberg II 9 ccm, Hefe Rasse XII 9,8 ccm, Schizosaccharomyces mellacei 9,9 ccm.

Nach Durchführung der Titration wurden sterilisierte Bleipapierstreifen in die Versuchskolben eingebracht. Nach 2 bis 3 Tagen zeigten alle Hefen mit Ausnahme des sehr schwach entwickelten Saccharomyces apiculatus und Schizosaccharomyces mellacei Schwärzung des Bleipapiers, also Schwefelwasserstoffbildung.

2. Versuch. Zur Verwendung kam eine Nährlösung von der Zusammensetzung: 1000 ccm dest. Wasser, 10 g $Na_2S_2O_3$, 20 g Dextrose, 20 g Saccharose, 1 g KH_2PO_4, 0,2 g $MgCl_2$, 2 g NH_4NO_3, 2 g NH_4Cl, eine Spur $FeCl_3$. Die sterilisierte Nährlösung war vollkommen klar. Die sonstige Versuchsanordnung war wie in dem früheren Versuch, nur wurden gleich größere Hefenmengen (1 Platinöse) in die 50 ccm sterile Nährlösung enthaltenden Erlenmeyerkölbchen eingeimpft. Nach Verlauf von 4 Tagen, innerhalb welcher eine ziemlich gute Hefenentwicklung aber ohne sichtbare Kohlensäureentwicklung stattgefunden hatte, wurde die Titration vorgenommen. In allen Versuchskolben konnte nicht bloß mit Hilfe von Bleipapier, sondern schon durch den Geruch Schwefelwasserstoffbildung wahrgenommen werden, deshalb fielen wohl auch die erhaltenen Titrationszahlen in den beimpften Kolben meist höher aus, als in dem unbeimpften Kontrollkolben. Schwefelsäure war in den Nährlösungen nicht nachzuweisen.

Die Titration mit $\frac{n}{10}$ Jodlösung ergab in je 20 ccm der Nährlösung den nachfolgenden Verbrauch an Jodlösung: Kontrollkolben 8,6 ccm $\frac{n}{10}$ Jodlösung, Sacch. ellipsoideus I H. 8,5 ccm, Sacch. cerevisiae I H. 8,5 ccm, Sacch. apiculatus 8,7 ccm, Weinhefe Johannisberg II 8,7 ccm, Hefe Rasse XII 8,6 ccm, Schizosaccharomyces mellacei 8,7 ccm.

3. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g $Na_2S_2O_3$, 5 g Mannit, 0,5 g KH_2PO_4, 1 g KNO_3, 1 g NH_4Cl, 0,2 g $MgCl_2$, eine Spur $FeCl_3$. Die 6 Hefen zeigten darin nach Verlauf von 4 Wochen schwache Entwicklung und deutliche Schwefelwasserstoffbildung.

Einige weitere Versuche mit Hefen und Natriumthiosulfat ergaben den vorangehenden ähnliche Resultate, weshalb auf sie hier nicht weiter eingegangen wird. Es sei nur hervorgehoben, daß in einer mit der im 2. Versuch verwendeten übereinstimmenden Nährlösung, die aber 5 %

Natriumthiosulfat (50 g) enthielt, innerhalb 5 Wochen eine gute Entwicklung (Depotbildung) von Saccharomyces ellipsoideus I H., Saccharomyces cerevisiae I H., Weinhefe Johannisberg II und Hefe Rasse XII eintrat; die beiden anderen Hefen waren sehr schwach entwickelt. Schwefeleinlagerungen wurden in den Hefezellen in dieser Nährlösung ebensowenig beobachtet, wie in den früher angeführten.

Beijerinck[1]) hat besonders betont, daß Hefen zu einer Reduktion von Sulfaten unter Schwefelwasserstoffbildung nicht befähigt sind. Es erschien uns nun von Interesse zu prüfen, ob unsere eingangs erwähnten Hefenreinzuchten, die eine kräftige Reduktion von Thiosulfat gezeigt hatten, sich ebenso verhalten. Es ist diese Frage auch von einiger Bedeutung für die Praxis der Gärungsgewerbe. Zu diesem Zwecke wurden die nachfolgenden Nährlösungen mit einer Spur der auf Bierwürzeagar gewachsenen Hefen: Saccharomyces ellipsoideus I Hansen, Saccharomyces cerevisiae I H., Saccharomyces apiculatus, Weinhefe Johannisberg II, Hefe Rasse XII und Schizosaccharomyces mellacei geimpft (4. und 5. Versuch).

4. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm Leitungswasser, 4 g Na_2SO_4, 5 g Mannit, 0,5 g KH_2PO_4, 1 g KNO_3, 1 g NH_4Cl, 0,2 g $MgCl_2$, eine Spur $FeCl_3$.

5. Versuch. Die gleiche Nährlösung wie im 3. Versuch, die jedoch statt Mannit 5 g Dextrose enthielt.

Nach einer Woche zeigten von den im Dunkeln gehaltenen Hefen Sacch. ellips. I H., Sacch. cerevisiae I H. und besonders Weinhefe Johannisberg II und Hefe Rasse XII in den angeführten Nährlösungen (4. und 5. Versuch) eine recht gute Entwicklung und Depotbildung, die zwei anderen Hefen waren nur sehr schwach entwickelt. Sacch. ellipsoideus I H. wies in der Dextrosenährlösung (und zwar nur diese Hefe allein) eine schwach rosenrote Färbung des Depots[2]) auf. Eine Schwefelwasserstoffbildung konnte in den Nährlösungen direkt nicht festgestellt werden. Aber auch eingehängte Bleipapierstreifen zeigten selbst nach Verlauf von weiteren drei Wochen nicht die geringste Verfärbung, während in sonst gleich zusammengesetzten Thiosulfatnährlösungen, besonders bei den besser entwickelten Hefen Saccharomyces ellipsoideus I Hansen, Saccharomyces cerevisiae I Hansen,

---

[1]) M. W. Beijerinck, Centralbl. f. Bakt., 2. Abt., Bd. 6, 1900, S. 194 (Anmerkung).

[2]) A. Kossowicz, Zeitschrift für das landwirtschaftliche Versuchswesen in Österreich, Bd. 6, 1903, S. 27. Einführung in die Mykologie der Genußmittel und in die Gärungsphysiologie, Berlin, 1911, S. 30 und 31.

Weinhefe Johannisberg II und Hefe Rasse XII, schon nach wenigen Tagen intensive Schwarzfärbung der Bleipapierstreifen erfolgt. Wir konnten also den Befund Beijerincks, daß Hefen Sulfate unter Schwefelwasserstoffbildung nicht reduzieren, auch für unsere Hefen bestätigen.

Aus den hier mitgeteilten Versuchen mit Hefen kann gefolgert werden:

1. Thiosulfate können Hefen als Schwefelnahrung dienen.

2. Die Assimilation erfolgt unter Schwefelwasserstoffbildung. Eine Abscheidung von Schwefel und die Bildung von Schwefelsäure in der Nährlösung konnte nicht beobachtet werden.

3. Eine Schwefelwasserstoffentwicklung aus Sulfat fand durch die von uns benützten Hefen in der von uns beobachteten Versuchsanstellung nicht statt.

II. Das Verhalten der Schimmelpilze zu Natriumthiosulfat.

Die Versuche wurden ausgeführt, indem in je 50 ccm der in Erlenmeyerkölbchen befindlichen sterilen Nährlösung die nachfolgenden Schimmelpilze (Reinzuchten) eingebracht wurden und zwar: Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum, Mucor γ Boidin, Cladosporium herbarum, Penicillium brevicaule, Aspergillus glaucus, Aspergillus niger, Isaria farinosa und Fusisporium.

1. Versuch. Eine Nährlösung von der Zusammensetznng 1000 ccm dest. Wasser, 0,2 g $Na_2S_2O_3$, 50 g Handelszucker, 0,1 g KH_2PO_4, 1 g $(NH_4)_2HPO_4$, 0,2 g $MgCl_2$ wurde mit den oben angeführten Pilzen geimpft, die nach Verlauf von einigen Tagen gute Entwicklung zeigten. Schwefelwasserstoff- und Schwefelsäurebildung konnte in den Nährlösungen nicht nachgewiesen werden. Versuchsdauer 5 Wochen. Versuchstemperatur 20° C.

2. Versuch. Die Nährlösung bestand aus: 1000 ccm destilliertem Wasser, 2 g $Na_2S_2O_3$, 25 g Dextrose, 0,5 g KH_2PO_4, 1 g $(NH_4)_2HPO_4$, 0,2 g $MgCl_2$ und einer Spur $CaCO_3$. Die Pilze zeigten schon nach 2 Tagen bei einer Versuchstemperatur von ca. 20° C deutliche Entwicklung. Bei der während der vierwöchentlichen Versuchsdauer wiederholt vorgenommenen direkten Prüfung der Nährlösung (mit $BaCl_2$ und Bleipapier) auf Schwefelsäure und Schwefelwasserstoff wurde stets ein negatives Resultat erhalten, eingehängtes sterilisiertes Bleipapier wurde innerhalb 48 Stunden nur durch Mucor γ Boidin geschwärzt. Bei der Prüfung mit $BaCl_2$ muß darauf geachtet werden, daß man leicht eine

Trübung der Nährlösung durch Phosphatbildung erhält, die das Vorhandensein von Schwefelsäure in der Nährlösung vortäuscht, weshalb der vorhergehende Zusatz von verdünnter Salzsäure vor Zugabe von Baryumchlorid zur Nährlösung zu empfehlen ist.

3. Versuch. Die Nährlösung hatte die nachfolgende Zusammensetzung: 1000 ccm dest. Wasser, 6 g $Na_2S_2O_3$, 25 g Dextrose, 0,1 g KH_2PO_4, 1 g $(NH_4)_2HPO_4$, 2 g KNO_2, 2 g NH_4NO_3, 0,2 g $MgCl_2$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$. Die Nährlösung zeigte vor und nach der Sterilisation keine Schwefelwasserstoff- und Schwefelsäurebildung und keine Schwefelablagerung und auch in den Pilzkulturen, die nach einigen Tagen zu einer guten Entwicklung kamen, konnten diese Verbindungen nicht nachgewiesen werden, nur Mucor Boidin hat eingehängtes sterilisiertes Bleipapier nach längerer Zeit gebräunt. Die Versuchsdauer betrug 3 Wochen, die Versuchstemperatur ca. 20° C.

4. Versuch. Die Nährlösung hatte die gleiche Zusammensetzung wie im 3. Versuch, die Versuchsanordnung war die gleiche. Das von den Pilzen verbrauchte Natriumthiosulfat wurde mit Hilfe von $\frac{n}{100}$ Jodlösung bestimmt. Die direkte Prüfung der Nährlösungen auf Schwefelwasserstoff und Schwefelsäure ergab ein negatives Resultat. Interessant erscheint das abweichende Verhalten der einzelnen Schimmelpilze zu Thiosulfat. Die unbeimfte Kontrollösung ergab auf 10 ccm der Nährlösung einen Verbrauch von 22,2 ccm $\frac{n}{100}$ Jodlösung, die Pilze verhielten sich wie folgt:

Botrytis Bassiana: Verbrauch 19,5 ccm $\frac{n}{100}$ J; Differenz 2,7 ccm.

Mucor Boidin: Verbrauch 20,9 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 1,7 ccm.

Cladosporium herbarum: Verbrauch 20,6 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 1,4 ccm.

Penicillium glaucum: 0 ccm $\frac{n}{100}$ J. Nach der Oxydation mit Brom wurde reichliche Bildung von Schwefelsäure nachgewiesen — vor derselben war keine vorhanden — der Pilz verwandelt also das Thiosulfat in Polythionat (Tetrathionat?).

Penicillium brevicaule: verunglückt.

Aspergillus glaucus: 18 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 4,2 ccm.

Aspergillus niger: 0 ccm $\frac{n}{100}$ J. Nach der Oxydation mit Brom wurde reichliche Bildung von Schwefelsäure nachgewiesen —

vor derselben war keine vorhanden — der Pilz verwandelt also das Thiosulfat in Polythionat (Tetrathionat?).

Isaria farinosa: 18,2 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 4 ccm.

Fusisporium: 22,4 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 0,2 ccm.

Die Entwicklung von Penicillium glaucum und Aspergillus niger war eine sehr schwache, die der anderen Pilze eine gute. Die mikroskopische Untersuchung ergab das Fehlen von Schwefelablagerungen in den Pilzfäden.

Aus diesen vier Versuchen ist wohl schon ersichtlich, daß Pilze Thiosulfat direkt assimilieren können ohne Bildung von Schwefelsäure, Schwefelwasserstoff und ohne Schwefelablagerung, daß Mucor Boidin Schwefelwasserstoff aus Thiosulfat entwickelt, Penicillium glaucum und Aspergillus niger bei den bisher benützten Konzentrationen Thiosulfat zu Polythionaten zu oxydieren vermögen und zwar ohne Bildung von Schwefelsäure (Sulfat).

5. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 g destilliertes Wasser, 6 g $Na_2S_2O_3$, 20 g Dextrose, 0,5 g KH_2PO_4. 2 g KNO_3, 1 g NH_4Cl, 0,2 g $MgCl_2$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$. Die Reaktion der sterilisierten Nährlösung war schwach alkalisch. Nach Verlauf von 3 Wochen (Versuchstemperatur ca. 20° C) wurden der Verbrauch von Thiosulfat durch die einzelnen Pilze mit Hilfe von $\frac{n}{100}$ Jodlösung in je 10 ccm der Nährlösung und das Pilzgewicht (Pilztrockensubstanz) bestimmt. Vor der Titration war in den Nährlösungen weder Schwefelwasserstoff, noch Schwefelsäure, noch Schwefelablagerung nachzuweisen, die mikroskopische Prüfung ergab das Fehlen von Schwefeleinlagerungen in den Pilzhyphen.

Die zur Titration von 10 ccm Nährlösung verbrauchte Menge an $\frac{n}{100}$ Jodlösung und das Pilzgewicht betrugen:

Kontrollkolben: 20,5 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Botrytis Bassiana: 19,5 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 1 ccm; Pilzgewicht 0,07 g.

*Penicillium glaucum: 0,2 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 20,3 ccm; Pilzgewicht 0,1 g (zeigte nach der Oxydation mit Brom kräftige Schwefelsäurereaktion, bildet also Polythionat [Tetrathionat?]).

Mucor Boidin: 11,7 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 8,8 ccm; Pilzgewicht 0,08 g (eingelegtes Bleipapier erfuhr eine Braunfärbung nach 24 Stunden, der Pilz entwickelt also Schwefelwasserstoff).

Cladosporium herbarum: 19,2 $\frac{n}{100}$ J; Diff. 1,3 ccm; Pilzgewicht 0,3 g.

Penicillium brevicaule: 20,3 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 0,2 ccm; Pilzgewicht 0,08 g.

Aspergillus glaucus: 20,2 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 0.3 ccm; Pilzgewicht 0,3 g.

Aspergillus niger: 0 ccm $\frac{n}{100}$ J; Pilzgewicht 0,04 g (zeigte nach der Oxydation mit Brom kräftige Schwefelsäurebildung, bildet also Polythionat [Tetrathionat?]).

Isaria farinosa: 19,6 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 0,9 ccm; Pilzgewicht 0,1 g.

Fusisporium: 20 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 0,5 ccm; Pilzgewicht 0,15 g.

Die zwei Pilze Penicillium glaucum und Aspergillus niger bilden in dieser schwach alkalischen Nährlösung Polythionat (Tetrathionat?), die übrigen Pilze nicht.

6. Versuch. Die Nährlösung war wie folgt zusammengesetzt: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g $Na_2S_2O_3$, 10 g Mannit, 0,5 KH_2PO_4, 4 g NH_4Cl, 0,2 g $MgCl_2$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$. Die sterilisierte Nährlösung war schwach sauer. Die Versuchsdauer betrug 3 Wochen, die Versuchstemperatur ca. 20° C. In den zwei Zuchten von Penicillium glaucum wurde Schwefelsäure nachgewiesen. Schwefelwasserstoff war in den Nährlösungen nicht vorhanden. Die Titration mit $\frac{n}{100}$ Jodlösung in 10 ccm der Nährlösung und die Pilzgewichtsbestimmung ergaben die folgenden Resultate:

Kontrollkolben: 16 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Botrytis Bassiana: 14,9 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 1,1 ccm; Pilzgewicht 0,05 g.

Penicillium glaucum Nr. 1: 13,8 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 2,2 ccm; Pilzgewicht 0,08 g (Schwefelsäurebildung).

Penicillium glaucum Nr. 2: 10,6 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 5,4 ccm; Pilzgewicht 0,1 g (Schwefelsäurebildung).

Mucor Boidin: 13,8 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 2,2 ccm; Pilzgewicht 0,04 g (eingehängte Bleipapierstreifen wurden nach einigen Tagen gebräunt: H_2S-Bildung).

Cladosporium herbarum: 15,6 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 0,4 ccm; Pilzgewicht 0,04 g.

Penicillium brevicaule: 15,4 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 0,6 ccm; Pilzgewicht 0,05 g.

Aspergillus glaucus: 15,4 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 0,6 ccm; Pilzgewicht 0,02 g (sehr schwach entwickelt).

Isaria farinosa: 13,2 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 2,8 ccm; Pilzgewicht 0,08 g.

Fusisporium: 13,4 ccm $\frac{n}{100}$ J; Diff. 2,6 ccm; Pilzgewicht 0,07 g.

In einzelnen Hyphen von Penicillium glaucum wurden stark lichtbrechende Einlagerungen wahrgenommen, die als Schwefeleinlagerungen gedeutet werden können. Dieser Versuch zeigt, daß unter geänderten Versuchsbedingungen (saure Reaktion der Nährlösung) Penicillium glaucum Thiosulfat statt zu Polythionat zu Schwefelsäure oxydieren kann; die übrigen acht Pilze zeigten dieses Verhalten nicht, wobei aber noch zu bemerken ist, daß die Entwicklung des Aspergillus niger eine außerordentlich schwache (geringe Flockenbildungen) war.

7. Versuch. Zur Anwendung gelangte eine Nährlösung, die bezüglich der Thiosulfatkonzentration mit der von Raciborski, bei der Züchtung von Aspergillus niger in der chemisch näher analysierten Kultur verwendeten, übereinstimmte, sonst aber etwas abwich. Sie hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 20 g $Na_2S_2O_3$, 50 g Saccharose (reinst), 10 g Ammoniumphosphat, 1 g KH_2PO_4, eine Spur $MgCl_2$, $CaCO_3$ und $FeCl_3$. In den sterilisierten Nährlösungen waren weder Schwefelsäure, noch abgelagerter Schwefel, noch Schwefelwasserstoff nachzuweisen. Die Titration von je 10 ccm der einzelnen Nährlösungen mit $\frac{n}{10}$ Jodlösung und die Untersuchung auf Schwefelsäure ergaben die folgenden Resultate (Versuchsdauer 3 Wochen bei 20° C):

Kontrollkolben: 9,2 ccm $\frac{n}{10}$ J; kein H_2SO_4.

Botrytis Bassiana: 8 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 1,2 ccm; kein H_2SO_4, keine Schwefelablagerung in den Hyphen.

*Penicillium glaucum Nr. 1: 6,2 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 3,0 ccm; H_2SO_4-Bildung; in einzelnen Hyphen Schwefelablagerung.

*Penicillium glaucum Nr. 2: 6,2 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 3,0 ccm; H_2SO_4-Bildung; in einzelnen Hyphen Schwefelablagerung.

Mucor Boidin: 8,7 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,5 ccm; kein H_2SO_4, keine Schwefelablagerung in den Hyphen.

Cladosporium herbarum: 8,4 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,8 ccm; kein H_2SO_4, keine Schwefelablagerung in den Hyphen.

Penicillium brevicaule: 8,9 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,3 ccm; kein H_2SO_4, keine Schwefelablagerung in den Hyphen.

Aspergillus glaucus: 7,6 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 1,6 ccm; kein H_2SO_4, keine Schwefelablagerung in den Hyphen.

*Aspergillus niger: 6,9 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 2,3 ccm; H_2SO_4-Bildung, in einzelnen Hyphen Schwefelablagerung.

Isaria farinosa: 8,5 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,7 ccm; kein H_2SO_4, keine Schwefelablagerung in den Hyphen.

Fusisporium: 8,3 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,9 ccm, kein H_2SO_4, keine Schwefelablagerung in den Hyphen.

Die Pilzdecken wurden sehr gut mit Wasser ausgewaschen (es dauert sehr lange bis das Natriumthiosulfat aus dem Pilzgeflecht vollständig entfernt ist), getrocknet, mit Schwefelkohlenstoff verrieben. Nach der Filtration wurde der Schwefelkohlenstoff verdunsten gelassen. Nur Penicillium glaucum und Aspergillus niger ergaben in Übereinstimmung mit dem mikroskopischen Befund einen Schwefelrückstand, der auch unter dem Mikroskop (Lösen in CS_2 und Wiederverdunstenlassen des Lösungsmittels, Kristallformen) als solcher mit Bestimmtheit erkannt werden konnte, die anderen Pilze gaben keinen Schwefelrückstand. Botrytis Bassiana und Aspergillus glaucus zeigten in Schwefelkohlenstoff lösliche Rückstände, die aber bestimmt nicht aus Schwefel bestanden (öliger Natur).

Wir sehen hier bei einer höheren Thiosulfat-Konzentration (2 % $Na_2S_2O_3$) und saurer Reaktion der Nährlösung bei den zwei Pilzen Penicillium glaucum und Aspergillus niger Schwefelsäurebildung und Schwefeleinlagerung in einzelnen Hyphen, während diese Pilze bei niedriger Thiosulfat-Konzentration in schwach alkalischer Nährlösung (Versuch 4 und 5) aus dem Natriumthiosulfat Polythionate (Tetrathionat), nicht aber Schwefelsäure bilden.

Alle Pilze hatten in der 2prozentigen $Na_2S_2O_3$-Lösung Fruktifikation gezeigt.

8. Versuch mit 5 % $Na_2S_2O_3$. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm dest. Wasser, 50 g $Na_2S_2O_3$, 25 g Dextrose, 0,1 g KH_2PO_4, 1 g $(NH_4)_2HPO_4$, 2 g KNO_2, 2 g NH_4NO_3, 0,2 g $MgCl_2$, eine Spur $CaCO_3$ und $FeCl_3$. Nach Verlauf einer Woche zeigten alle zehn Pilze Entwicklung und alle außer Aspergilllus niger Fruktifikation.

9. Versuch mit 10 % $Na_2S_2O_3$. Die sonst gleiche Nährlösung enthielt 100 g $Na_2S_2O_3$ in 1000 ccm dest. Wasser. Schon nach 3 bis 4 Tagen kamen alle Pilze zur Entwicklung. Nach einer Versuchsdauer von 14 Tagen (Versuchstemperatur 15—20° C) wurden die Nährlösungen (je 5 ccm) mit $\frac{n}{10}$ Jodlösung titriert, das Pilzgewicht der einzelnen Pilze bestimmt und die Nährlösungen auf das Vorhandensein von Schwefelwasserstoff und Schwefelsäure geprüft. Aspergillus niger, der am Tage der Untersuchung noch sehr schwach entwickelt war, wurde erst zwei Wochen später, also nach 4wöchentlicher Versuchsdauer untersucht. Er war der einzige Pilz bei dem Schwefelsäurebildung und Schwefelabscheidung in den Hyphen und in der Nährlösung aufgefunden wurde. Die anderen neun Pilze zeigten weder Schwefelwasserstoff- noch Schwefelsäurebildung.

Die Titration von 5 ccm der Nährlösung mit $\frac{n}{10}$ Jodlösung und die Pilzgewichtsbestimmung ergaben folgende Resultate:

Kontrollkolben: 21,6 ccm $\frac{n}{10}$ J pro 5 ccm Nährlösung.

Botrytis Bassiana: 21,4 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,2 ccm; Pilzgewicht 0,04 g.

Penicillium glaucum Nr. 1: 19 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 2,6 ccm; Pilzgewicht 0,2 g.

Mucor Boidin: 20,6 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 1 ccm; Pilzgewicht 0,15 g.

Cladosporium herbarum: 20,6 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 1 ccm; Pilzgewicht 0,15 g.

Penicillium glaucum Nr. 2: 21,0 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,6 ccm; Pilzgewicht 0,15 g.

Penicillium brevicaule: 20,9 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,7 ccm; Pilzgewicht 0,07 g.

Aspergillus glaucus: 21,4 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,2 ccm; Pilzgewicht 0,2 g.

Aspergillus niger (2 Wochen später untersucht): 17,7 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 3,9 ccm; schwache Entwicklung.

Isaria farinosa: 21,0 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,6 ccm; Pilzgewicht 0,15 g.

Fusisporium: 21,5 ccm $\frac{n}{10}$ J; Diff. 0,1 ccm.

10. Versuch mit 40% $Na_2S_2O_3$. Die Nährlösung hatte sonst die gleiche Zusammensetzung wie im 8. Versuch, nur kamen auf 1000 ccm dest. Wasser 400 g $Na_2S_2O_3$. Nach 3wöchentlicher Versuchsdauer (Zimmertemperatur) zeigten Penicillium glaucum und Botrytis Bassiana ziemlich gute Entwicklung, Isaria farinosa, Cladosporium herbarum, Penicillium brevicaule und Fusisporium schwächere Entwicklung, Aspergillus niger, Aspergillus glaucus und Mucor Boidin keine Entwicklung. Schwefelabscheidung in den Pilzfäden und extrazellular, ferner Schwefelsäurebildung konnte nur bei Penicillium glaucum wahrgenommen werden. Dieser Pilz zeigte kräftige Deckenbildung und Fruktifikation. Schwefelwasserstoffbildung konnte bei keinem der Pilze weder direkt, noch innerhalb drei Tagen an eingehängten sterilisierten Bleipapierstreifen festgestellt werden.

Zwei weitere Versuche wurden ausgeführt, um festzustellen, ob das ungleiche Verhalten von Penicillium glaucum und Aspergillus niger zu Natriumthiosulfat in verschieden zusammengesetzten Nährlösungen tatsächlich von der Reaktion der Nährlösung abhängig sei, oder ob auch die Kohlenstoffquelle eine Rolle spielt.

11. Versuch. Zwei Erlenmeyerkölbchen mit einer Nährlösung von der Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g $Na_2S_2O_3$, 10 g Dextrose, 0,5 g KH_2PO_4, 2 g KNO_3, 1 g NH_4Cl, 0,2 g $MgCl_2$ und eine Spur $FeCl_3$ wurden mit Penicillium glaucum, ein Kölbchen mit Aspergillus niger beimpft, ein Kölbchen blieb als Kontrolle

unbeimpft. Zur Titration der 4 Kölbchen, die nach 4 Tagen erfolgte, wurden für 10 ccm der Nährlösung nachfolgende Mengen von $\frac{n}{100}$ Jodlösung verwendet:

Kontrolle: 19,2 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Aspergillus niger: 18,8 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Penicillium glaucum Nr. 1: 18,4 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Penicillium glaucum Nr. 2: 18,7 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Als Versuchstemperatur wurde 15° C gewählt. Die Entwicklung der Pilzzuchten war eine schwache. Schwefelsäure- und Schwefelwasserstoff konnten in den Nährlösungen am Tage der Titration nicht nachgewiesen werden.

12. Versuch. Die Versuchsanordnung war die gleiche wie im 11. Versuch, nur enthielt die Nährlösung statt Dextrose 10 g Mannit.

Die Titration der sehr schwach entwickelten Zuchten mit $\frac{n}{100}$ Jodlösung ergab in 10 ccm der Nährlösung:

Kontrolle: 19,8 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Aspergillus niger: 19,6 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Penicillium glaucum Nr. 1: 19,5 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Penicillium glaucum Nr. 2: 18,5 ccm $\frac{n}{100}$ J (besser entwickelt wie in Nr. 1).

Schwefelsäure- und Schwefelwasserstoffbildung konnten in den schwach entwickelten Pilzkulturen nicht festgestellt werden.

Aus den Versuchen Nr. 11 und Nr. 12 geht hervor, daß die Kohlenstoffquelle nur insofern einen Einfluß nimmt, als die Entwicklung der Pilze in Dextroselösungen viel rascher und kräftiger erfolgt.

13. Versuch. Die Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, 4 g $Na_2S_2O_3$, 20 g Dextrose, 1 g KH_2PO_4, 4 g NH_4Cl, 0,2 g $MgCl_2$, eine Spur $FeCl_3$. Die Nährlösung war schwach sauer. Je zwei Kölbchen blieben als Kontrolle ungeimpft, zwei wurden mit Penicillium glaucum, zwei andere mit Aspergillus niger beimpft. Versuchstemperatur 15° C. Nach Verlauf von vier Tagen zeigte Penicillium glaucum eine ziemlich gute, Aspergillus niger eine recht schwache

Entwicklung. Die Titration mit $\frac{n}{100}$ Jodlösung ergab folgenden Verbrauch an Jodlösung für je 10 ccm der Nährlösung:

Kontrolle: 19,8 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Aspergillus niger Nr. 1: 19,7 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Aspergillus niger Nr. 2: 19,3 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Penicillium glaucum Nr. 1: 16 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Penicillium glaucum Nr. 2: 17,9 ccm $\frac{n}{100}$ J.

In der schwach sauren Nährlösung von Penicillium glaucum Nr. 1 konnte deutliche Schwefelsäurebildung nachgewiesen werden. Schwefelwasserstoff wurde bei der direkten Prüfung in den Pilzkulturen nicht vorgefunden.

14. Versuch. Die Versuchsanordnung war die gleiche wie im 13. Versuch, nur enthielt die Nährlösung noch 2 g KNO_2 und zeigte schwach alkalische Reaktion. Die Pilzentwicklung war besonders bei Aspergillus niger schwächer wie im 13. Versuch. Die Titration mit $\frac{n}{100}$ Jodlösung ergab folgenden Verbrauch an Jodlösung für je 10 ccm der Nährlösung:

Kontrolle: 15,2 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Aspergillus niger Nr. 1: 14,9 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Aspergillus niger Nr. 2: 15 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Penicillium glaucum Nr. 1: 10,1 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Penicillium glaucum Nr. 2: 10 ccm $\frac{n}{100}$ J.

Schwefelsäure konnte nicht nachgewiesen werden, ebenso war die Bildung von Schwefelwasserstoff nicht festzustellen. Bei dem sehr schwach entwickelten Aspergillus niger war ein besonderer Unterschied gegenüber dem 13. Versuch zwar nicht nachzuweisen, wohl aber bei Penicillium glaucum, dessen stärkerer Verbrauch an Natriumthiosulfat jedenfalls der Bildung von Polythionat (Tetrathionat) in der alkalischen Nährlösung zuzuschreiben ist (s. Versuch 4 und 5).

Zu bemerken wäre noch, daß zum Nachweis von Schwefelwasserstoff mit Hilfe von Bleipapierstreifen, die durch den Wattepfropfen in

dem Hals der Erlenmeyerkölbchen oberhalb der Nährlösung festgehalten werden, unbedingt sterilisierte Bleipapierstreifen zu verwenden sind. Um das Braunwerden der Bleipapierstreifen durch Sterilisation in der Hitze zu vermeiden, empfiehlt es sich, die Bleipapierstreifen vor der Verwendung in heiße kochende Bleizuckerlösung einzubringen und in dieser Lösung einige Zeit zu belassen, wodurch sie steril erhalten werden.

Höhere Konzentrationen von Natriumthiosulfat, besonders saure Lösungen, erleiden auch in sterilem Zustande bei längerem Stehen (mehrere Wochen) eine merkliche Zersetzung unter Schwefelabscheidung, worauf bei längerer Versuchsdauer Rücksicht genommen werden muß, da sich selbstverständlich dadurch ganz andere Versuchsbedingungen und naturgemäß auch andere Versuchsresultate ergeben.

Die hier mitgeteilten mit Hefen und Schimmelpilzen ausgeführten Versuche haben ergeben:

1. Hefen assimilieren Thiosulfat unter Bildung von Schwefelwasserstoff.

2. Eine Reduktion von Sulfat durch Hefen unter Schwefelwasserstoffbildung findet nicht statt.

3. Botrytis Bassiana, Cladosporium herbarum, Penicillium brevicaule, Aspergillus glaucus, Isaria farinosa und Fusisporium können Thiosulfate direkt assimilieren. Es konnte bei diesen Pilzen unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen weder die Bildung von Schwefelwasserstoff, noch von Schwefelsäure, noch Schwefelablagerung nachgewiesen werden; eine merkliche Oxydation des Thiosulfats zu Polythionaten (Tetrathionat) war nicht erfolgt.

4. Mucor Boidin entwickelt, ebenso wie dies bei Hefen der Fall ist, in Thiosulfatlösungen Schwefelwasserstoff, dessen Bildung aber meist erst bei längerem Einhängen von Bleipapierstreifen in den Kulturkölbchen nachgewiesen werden kann.

5. Penicillium glaucum und Aspergillus niger bilden je nach den Versuchsbedingungen (Reaktion der Nährlösung) entweder Polythionat (Tetrathionat?) oder Schwefelsäure, wobei im letzteren Falle auch eine Schwefelabscheidung erfolgt.

6. Auch in Nährlösungen mit 40% Thiosulfat kommen einzelne Schimmelpilze zu einer guten Entwicklung und Fruktifikation.

7. Schwefeleinlagerungen in den Hyphen finden in den Nährlösungen mit niedrigen Thiosulfatkonzentrationen gewöhnlich nicht statt; man trifft sie auch bei höheren Konzentrationen nur gelegentlich bei einzelnen, nicht bei allen Pilzen an.

Über den kinetischen Verlauf der alkoholischen Gärung.

Von **A. v. Lebedew.**

(Aus dem agrikultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Nowotscherkassk.)

Im Jahre 1908 habe ich bei meinen kinetischen Studien über die Zwischenprodukte der alkoholischen Gärung[1]) festgestellt, „daß das Verschwinden des Zuckers und die Gärung zwei nebeneinander verlaufende, unabhängige Prozesse (konsekutive Reaktionen) sind“ [2]).

Im Jahre 1910 habe ich einen von den zahlreichen Versuchen, die ich mit Preßsaft aus der Hefe der Schultheiß-Brauerei, A.-G., in Berlin ohne Zusatz von Phosphat ausgeführt habe, ausführlicher beschrieben und das nachfolgende Diagramm mit den beiden Kurven *AB* und *AC* angegeben (Fig. 1).

Ich schrieb damals[3]):

„Die Menge des in der Lösung in bestimmten Zeitintervallen noch bleibenden Zuckers kann man nach zwei Methoden bestimmen, einmal indirekt, indem man den zersetzten Zucker nach der entwickelten Menge der Kohlensäure berechnet und von dem von Anfang an vorhanden gewesenen abzieht. Trägt man die so ermittelte Menge des Zuckers auf die Ordinate auf, die Zeit auf die Abszisse, so ergibt sich die Kurve *AB* (Fig. 1). Wenn man aber den vorhandenen Zucker in gärender Flüssigkeit bestimmt, so bekommt man die Kurve *AC* (Fig. 1). Die Differenz der beiden Kurven zeigt offenbar, daß in der Lösung ein Produkt vor-

---

[1]) A. Lebedew, Biochemische Zeitschrift Bd. 10, 1908, S. 456.

[2]) Wenn sich Milchsäure als Zwischenprodukt der alkoholischen Gärung bildet, wie dies Buchner und Meisenheimer behaupteten, müßte die Differenz zwischen den beiden Kurven in der Mitte der Gärung besonders deutlich werden; diese Erwägung veranlaßte mich damals, diesbezügliche Versuche anzustellen. Die Kohlensäure habe ich mit Hilfe des Waltonschen Schüttelapparates, den Zucker nach der Bangschen Methode kinetisch gemessen. Die von mir vermutete Differenz wurde auch wirklich bei diesem Versuche festgestellt, doch war die Ursache derselben, wie es sich später herausstellte, eine ganz andere.

[3]) A. Lebedew, Bioch. Zeitschr. Bd. 28, S. 213.

handen ist, das nicht mehr ursprünglicher Zucker ist, aber auch noch in CO_2 und Alkohol zersetzt wird. Ist nun in der Lösung die Hälfte des Zuckers vergoren, so sind ca. 20 % der ursprünglichen Zuckermenge, scheinbar, nach dem Reduktionsvermögen berechnet, verschwunden, ohne die entsprechende Menge der CO_2 und des Alkohols zu liefern. Dieser Verlauf der Kurven ist charakteristisch für die konsekutiven Reaktionen mit der Bildung des Zwischenproduktes."

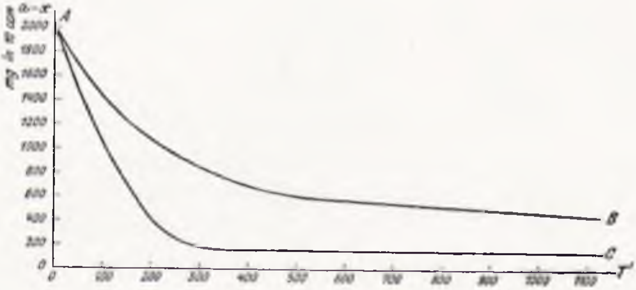


Fig. 1.

Harden und Young[1]) und später Buchner und Meisenheimer[2]), die die Arbeit der eben genannten Autoren wiederholt haben, zeigten, daß bei der Gärung ein Teil des Zuckers in ein sogenanntes Polysaccharid übergeht. Wenn nun die Ursache der Differenz der beiden Kurven in dem Entstehen des Polysaccharids gelegen wäre, so dürften die Kurven auf diese Weise verlaufen (Fig. 2, schematisch).



Fig. 2.

Das ist aber, nach dem in Fig. 1 angeführten Diagramm, nicht der Fall.

---

[1]) Harden und Young, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 37, 1904, S. 1052.

[2]) Buchner und Meisenheimer, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 39, 1906, S. 3201.

Indessen mußte ich die kinetischen Studien, die mich zur Isolierung[1]) des Zuckeresters geführt haben, für einige Zeit unterbrechen, um alle meine Aufmerksamkeit auf die Aufklärung des Chemismus der Gärung zu lenken[2]).

Ähnliche Versuche, jedoch mit lebender Hefe statt mit dem Hefenpreßsaft, haben später auch Euler und Johansson[3]) ausgeführt und hierbei meine Angaben[4]) im wesentlichen bestätigt, doch blieb an dieser Stelle[5]) meine Beobachtung unerwähnt.

In dieser Zeitschrift sprechen Euler und Berggren auch über den „Hefeextrakt"[6]). Ich möchte nun darauf hinweisen, daß der sogenannte „Hefeextrakt" nichts weiter ist, als der nach meiner, von den Autoren etwas abgeänderten Methode, dargestellte Hefemazerationssaft[7]). Sie verwenden ihn in abgekochtem Zustande, es handelt sich also um Kochsaft, der, nach Harden und Young[8]) ein Koenzym enthält. Die außerordentlich günstige Wirkung des Kochsaftes auf die Preßsaftgärung wurde von Buchner und Klatte[9]) ausführlich studiert. Später habe ich gezeigt, daß der nach meiner Methode dargestellte Hefemazerationssaft besonders reich an Koenzym ist[10]). Es kann also nicht wundernehmen, daß auch die Gärung der lebenden Hefe durch Zusatz des Kochsaftes sehr begünstigt wird, wie dies auch Euler und Berggren[11]) in ihrer Areit gefunden haben.

---

[1]) A. Lebedew, a. a. O. und Biochem. Zeitschrift Bd. 20, 1909, S. 124.

[2]) A. Lebedew, Compt. rend. de l'acad. Bd. 153, 1911, S. 136; Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 44, 1911, S. 2932.

[3]) Euler und Johansson, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 76, 1912, S. 347.

[4]) E. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 73, S. 314; A. Lebedew, Ibid. Bd. 75, S. 499.

[5]) Euler und Johansson, a. a. O.; s. a. Euler und Berggren, a. a. O.

[6]) Euler und Berggren, Zeitschr. f. Gärungsphys. Bd. 1, 1912, S. 205.

[7]) A. Lebedew, Compt. rend. de l'acad. Bd. 152, 1911, S. 49; Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 73, 1911, S. 447. Statt nach meiner Vorschrift bei 35° durch 2 Stunden, mazerieren die Autoren 3 Stunden bei 30°.

[8]) Harden und Young, Journ. Physiol. Bd. 32, 1904; Proc. Ch. Soc. Bd. 21, 1905; Proc. Roy. Soc. Bd. 77 u. 78, 1906.

[9]) Buchner und Klatte, Biochem. Zeitschr. Bd. 15, 1909, S. 311.

[10]) A. Lebedew, Ann. de l'Inst. Pasteur Bd. 25, 1911, S. 682; Bull. de la Soc. chem. de France, 4e, t. 9, 1911, S. 672.

[11]) Euler und Berggren, a. a. O.

Über den unvergärbaren Zucker (Pentose) und die Furfurolbildung im Wein.

Von Dr. **R. Haid.**

(Vorläufige Mitteilung aus dem Chemischen Versuchs- und Hefereinzuchtlaboratorium der k. k. höheren Lehranstalt für Wein- und Obstbau in Klosterneuburg.)

Die Resultate meiner bisherigen Untersuchungen über diesen Gegenstand sind bereits in dem Jahresberichte der k. k. höheren Lehranstalt für Wein- und Obstbau 1910/11, welcher im August 1911 erschien, auf Seite 105—106 niedergelegt. Zur Veröffentlichung meiner diesbezüglichen Versuche in einer Fachzeitschrift drängt mich das Referat über die Arbeit von V. Pasquero und A. Cappa[1]) in Bd. 24, Heft 5, S. 355 der Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel. Aus diesem Referate[2]) geht hervor, daß Pasquero und Cavagnari bereits 1909 (Atti della Soc. Lig. di Science Naturali 20) gezeigt haben, daß man bei der Destillation von Wein kein Furfurol erhält, wenn der Wein vorher neutralisiert war.

Unabhängig von diesen Verfassern gelangte ich zu demselben Resultate und stellte außerdem fest, daß das bei der Destillation von Wein sich bildende Furfurol nicht aus der l-Arabinose stammen kann, wie aus den folgenden Mitteilungen entnommen werden möge.

Die unternommenen Versuche bezweckten, die in der Literatur mehrfach[3]) enthaltene Angabe, daß der in jedem Wein in einer Menge von ca. 0,1 % nach der normalen Gärung zurückbleibende, also unvergärbare, die Fehlingsche Lösung jedoch reduzierende Zucker, die

---

[1]) V. Pasquero und A. Cappa, Die Gegenwart von Furfurol als ein Zeichen einer Fälschung bei einigen alkoholischen Getränken. Gaz. chim. ital. 1911, 41, Bd. 2, S. 349—358.

[2]) Siehe auch Chem. Centralbl. Bd. 1, 1912, S. 857.

[3]) J. Weiwers, Über den unvergärbaren Zucker im Wein. Referat in Chem.-Ztg. 1906 (Chem. Repert. S. 292).

l-Arabinose sei, näher zu prüfen. Diese nirgends bewiesene Annahme kann nach den bisherigen Versuchen nicht mehr aufrecht erhalten werden.

Bekanntlich liefern die Pentosen bei der Destillation mit Salz- oder Schwefelsäure Furfurol gemäß der Gleichung:

$$C_5H_{10}O_5 = C_5H_4O_2 + 3H_2O.$$

Diese katalytische Wirkung der Wasserstoffionen wird umso schwächer werden müssen, je geringer deren Konzentration ist. Die Säuren des Weines, Weinsäure und Äpfelsäure, sind in wässeriger oder wässerig-alkoholischer Lösung viel weniger in ihre Ionen gespalten als die starken Mineralsäuren. Für die Entscheidung der Frage, ob Furfurol im Wein aus Arabinose entstehen kann, war es daher vor allem notwendig, die Wirkung der Säuren des Weines, jede für sich, auf Arabinose zu untersuchen und dabei die Mengenverhältnisse wie im Wein möglichst einzuhalten.

Zu dem Zwecke wurden 0,2 g „kristallisierte Arabinose" (frisch von Merck bezogen)[1]) und 1 g reinste Äpfel- bezw. Weinsäure in je 100 ccm 10prozentigen Alkohols gelöst und darauf etwa zwei Drittel abdestilliert. Bei neun derartigen Versuchen wurde in keinem Falle im Destillat Furfurol nachgewiesen. Als Reagens diente eine nur schwach gefärbte Mischung von gleichen Teilen Anilin und Eisessig in Alkohol, welche noch 0,001 % Furfurol durch Rosafärbung anzeigte.

In einigen Fällen wurden drei Fraktionen des Destillates getrennt untersucht, in der Annahme, daß erst mit zunehmender Konzentrierung der Säure die Furfurolbildung nachweisbar wird, jedoch mit negativem Erfolg. Der Destillationsrückstand (ca. 30 ccm) gab dagegen nach Zusatz von 10 ccm H_2SO_4 (1 : 4) und 60 ccm Wasser beim Destillieren die Furfurolreaktion, welche von der ersten bis zur dritten Fraktion deutlich an Intensität zunahm. Zur vergleichenden Prüfung der Farbenreaktion wurden je 5 ccm der Fraktion mit je 1 ccm Reagens vermischt.

Um den angewendeten Destillierapparat (langer Kugelkühler) daraufhin zu prüfen, ob nicht etwa infolge der großen Flüchtigkeit des Furfurols Spuren davon entweichen können, wurde eine sehr stark verdünnte Lösung des Aldehydes hergestellt, welche höchstens 1 mg in 100 ccm enthielt, und destilliert. Das Destillat (ca. 70 ccm) zeigte eine deutliche Rosafärbung, welche sogar noch etwas intensiver war als vor der Destillation. Ein Verlust von gebildetem Furfurol, welches etwa bei den Versuchen mit Arabinose dem Nachweise entgangen wäre, war also ausgeschlossen.

---

[1]) Es kann sich bei diesem Präparat ausschließlich nur um l-Arabinose handeln.

Somit ist der Schluß berechtigt, daß die Bildung von Furfurol beim gewöhnlichen Destillieren von vollständig vergorenem Wein nicht auf das Vorhandensein von l-Arabinose zurückgeführt werden kann, sondern daß im Wein eine andere Pentose enthalten ist, welche schon durch die Einwirkung der schwachen Säuren des Weines Furfurol abspaltet. In dieser Richtung sollen die Untersuchungen fortgesetzt werden.

Zur Prüfung der Entstehungsweise von Furfurol im Wein wurden zwei Weißweine und zwei Rotweine aus dem Versuchskeller der Lehranstalt, Original-Klosterneuburger Weine, verwendet, welche sämtlich vollständig vergoren, also praktisch frei von Hexosen waren. Diese wurden sowohl direkt, als auch nach dem Neutralisieren mit Natron- bezw. Kalilauge destilliert.

Beim direkten Destillieren konnte in allen Fällen im Destillate Furfurol nachgewiesen werden. Teils wurden 100 ccm Wein bis auf ca. 15 ccm abdestilliert und drei Fraktionen des Destillates getrennt mit Anilin-Eisessig geprüft, teils 300 ccm Wein bis auf 20 ccm abdestilliert und fünf Fraktionen auf Intensität der Rotfärbung vergleichend untersucht.

Hierbei konnte in allen vier Weinen eine regelmäßige Steigerung der Furfurolbildung beobachtet werden, welche offenbar der Zunahme der Säurekonzentration proportional war.

Wurden dagegen diese Weine vor dem Destillieren neutralisiert oder auch mit überschüssigem Alkali versetzt, so konnte selbst bei getrennter Prüfung der Fraktionen keine Spur einer Furfurolreaktion, auch nicht nach mehreren Minuten, konstatiert werden.

In einem besonderen Versuche wurden 100 ccm einer Furfurollösung, welche höchstens 1 mg Substanz enthielt, mit überschüssiger Kalilauge (ca. 75 mg KOH) destilliert und dieselbe Intensität der Rotfärbung im Destillate erhalten, wie mit der Furfurollösung selbst. Also kann beim Destillieren von alkalisch gemachtem Wein kein Furfurol dem Nachweise entgehen, welches schon von Natur darin enthalten wäre.

Aus den gesamten Versuchsergebnissen kann somit der vorläufige Schluß gezogen werden, daß Naturweine ursprünglich kein Furfurol enthalten, sondern daß dieses erst aus einer im Wein noch nicht nachgewiesenen Pentose, welche aber nicht l-Arabinose sein kann, mit zunehmender Konzentrierung des Weines nach und nach gebildet wird.

Referate.

Slator, A. Über Dioxyazeton als Zwischenstufe der alkoholischen Gärung. Ber. d. deutsch. chem. Ges., Bd. 45, 1912, 43.

Verf. hatte in den Jahren 1906 und 1907 sich mit Messungen über die Geschwindigkeit der alkoholischen Gärung beschäftigt und damals aus seinen Versuchen geschlossen, daß Milchsäure als Zwischenprodukt nicht entstehen könne. Die gleichen Untersuchungsmethoden hat er auch jetzt verwendet, um zu prüfen, ob Dioxyazeton als intermediäres Produkt entsteht. Verf. konnte zeigen, daß Dioxyazeton durch Hefe nicht direkt vergoren wird, demnach auch nicht als Zwischenprodukt anzusehen sei. Zikes.

Euler, H. und Funke, Y. Über die Spaltung des Kohlenhydratphosphorsäureesters. Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 77, 1912, S. 488.

Kohlenhydratphosphorsäureester bezw. dessen lösliche Salze werden durch ein im Hefepreßsaft vorkommendes Enzym, welches von den Entdeckern Harden und Young Hexosephosphatase genannt wurde, hydrolysiert. Da das Enzym und seine Beziehung zum synthetisierenden Agens, der Phosphatase, ein besonderes Interesse beansprucht, so wurde in vorliegender Arbeit der Versuch gemacht, dieses Enzym auch im Tierkörper nachzuweisen.

Verf. kamen zu dem Schluß, daß auch im Tierkörper der Zuckerzerfall in mehreren Phasen verlaufen wird, an welchen verschiedene Enzyme beteiligt sind. Diese dürften räumlich getrennt voneinander zur Wirkung kommen, so daß die primäre Umwandlung des Zuckers in einem Organ A, die eventuell intermediäre Bildung eines Phosphorsäureesters in einem anderen Organ B und die schließliche Bildung von Alkohol und CO_2 in einem weiteren Organ C erfolgt. Zikes.

Neuberg, C. und Karczag, L. Über zuckerfreie Hefegärungen. III. Bioch. Zeitschr., Bd. 36, Heft 1, 1911, S. 60.

Neuberg hatte bei seinen früheren Untersuchungen über zuckerfreie Gärungen die Menge der entwickelten Kohlensäure als Maß für die Gärtätigkeit der Hefe festzustellen versucht. In vorliegender Arbeit hat Neuberg mit seinem Mitarbeiter die Abnahme der Substanzen selbst, welche der Vergärung unterliegen und zur CO_2-Produktion Veranlassung geben, ins Auge gefaßt und dieselbe bestimmt. Sie beschäftigten sich in dieser Richtung mit Brenztraubensäure, d-Weinsäure und Glyzerinphosphorsäure. Bei allen drei Verbindungen konnte ein der CO_2-Bildung entsprechender Verbrauch dieser

Substanzen konstatiert werden. Ferner wurde festgestellt, daß sowohl durch anorganische (NaCl, $(NH_4)_2SO_4$) wie organische Zusätze (Brenztraubensäure, Oxalessigsäure) die Selbstgärung der Hefe herabgedrückt werden kann.

Zikes.

Neuberg, C. und Karczag, L. Über zuckerfreie Hefegärungen. VI. Bioch. Zeitschr., Bd. 37, Heft 1 und 2, 1911, S. 170.

Verf. haben eine Reihe von Ketonsäuren auf ihre Angreifbarkeit durch Hefen überprüft, wie Azetondikarbonsäure, Chelidonsäure, Dioxyweinsäure, Benzoylessigsäure, Phenylbrenztraubensäure, p-Oxyphenylbrenztraubensäure, Phenylglyoxalsäure, Azetylendikarbonsäure. Sie erhielten ein völlig negatives Resultat bei Benzoylessigsäure, ein zweifelhaftes bei Azetylendikarbonsäure, während alle übrigen Säuren oder deren Kaliumsalze ein positives Resultat ergaben. Auf einen wichtigen Punkt lenken schon jetzt die Verf. die Aufmerksamkeit, nämlich auf die Tatsache, daß gerade die α-Ketonsäuren ganz besonders leicht der zuckerfreien Gärung unterliegen. Zikes.

Schönfeld, F. und Krampf, H. Die Heranzüchtung der Reinhefe und die Bedeutung des Züchtungsverfahrens für die chemische und physiologische Beschaffenheit der Hefe. Wochenschr. f. Brauerei, XXVIII, 1911, S. 157.

Die Verf. erhielten bei zwei untersuchten Hefen, von welchen die eine in der üblichen Weise in offenen Gefäßen hergeführt wurde und die zweite nach dem Lüftungsverfahren bei warmer Temperatur gezüchtet wurde, folgende Untersuchungsergebnisse:

Eine nach dem Herführungsverfahren gezüchtete Hefe ist durch einen höheren Eiweißgehalt und Aschegehalt, aber durch einen niederen Glykogengehalt ausgezeichnet. Sie ist weiter charakterisiert durch einen höheren Gehalt an löslicher und löslich organischer Phosphorsäure, durch einen niedrigeren Gehalt an löslicher anorganisch gebundener Phosphorsäure. Ihr spezifisches Gewicht ist niedriger, ihre Flockenbildung besser, ihre Triebkraft höher, aber ihre Vergärung niedriger als bei einer nach dem Lüftungsverfahren und bei warmer Temperatur gezüchteten Hefe. Verf. kamen zu dem Schlusse, daß der Art der Züchtung bei Hefen ein entscheidender Einfluß auf ihre chemische Zusammensetzung zuzusprechen ist. Zikes.

Lipman, C. B. Bindung des elementaren Stickstoffs durch Hefen und andere Pilze. Journ. of biolog. chem., Bd. 10, 1911, S. 169[1]).

Nach Versuchen des Verf. sind gewisse Hefen wie S. cerevisiae, Hans. apiculata, gewisse Torula- und Mycoderma-Arten, ferner Penic. glaucum und

[1]) Anm. d. Red. Die Abhandlung von Lipman ist im Spätherbst 1911 (Baltimore) erschienen. Vergl. a. Al. Kossowicz, Einführung in die Mykologie der Genußmittel, 1911, S. 13 und diese Zeitschrift, Bd. I, 1912, S. 253.

Asperg. niger oligonitrophil und vermögen den Stickstoff der Luft zu assimilieren. Am meisten stickstoffbindend wurde eine Torula erkannt, welche in Mannitlösung pro 1 g verbrauchten Mannits 2,94 mg Stickstoff bindet.

Zikes.

Euler, H. und Bäckström, H. Zur Kenntnis der Hefegärung. Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 77, 1912, S. 294.

Durch Trockenhefe oder Hefepreßsaft wird Phosphorsäure an einen Kohlehydratrest organisch gebunden; Iwanoff sah diesen Ester als Triosephosphorsäure, Harden und Young als Hexosediphosphorsäure an; Euler und Fodor wiesen andererseits darauf hin, daß sowohl eine Triosephosphorsäure wie auch eine Hexosephosphorsäure entstehen. Der von Iwanoff studierte Phosphorsäureester wird, wie dieser Forscher exakt nachgewiesen hat, durch Zymin und Hefanol vergoren. Lebende Hefe ist dagegen nach Iwanoff nicht imstande, den Phosphorsäureester zu vergären. Verf. suchten diese Frage gleichfalls zu lösen nnd kommen zu dem Schlusse, daß gut ausgewaschene Trockenhefe nicht imstande ist, mit reinem Kohlenhydratphosphorsäuresalz in Glukoselösung Gärung hervorzurufen, während auf Zusatz von Waschflüssigkeit lebhafte Gärung eintritt. Andererseits steht aber fest, daß das Estersalz, welches allein zu ausgewaschener Trockenhefe zugesetzt, keine Glukosegärung veranlaßt und somit kein Koenzym im Sinne Hardens und Youngs enthält, die Gärung durch lebende Hefe beschleunigt und dabei selbst nicht (oder höchstens in minimaler Menge) gespalten wird.

Zikes.

Gorini, C. Die frischen, gelagerten und getrockneten Rübenschnitzel in Beziehung zur Mikroflora und gesundheitlichen Beschaffenheit der Milch. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 35—40 und Milchw. Zentralbl. **41**, 1912, S. 241—245.

Sowohl die frischen, wie die ensilierten und die getrockneten Diffusionsrückstände wurden relativ reich an Buttersäure- und Fäulnisbakterien gefunden, am meisten die ensilierten. Sowohl auf direktem Wege wie nach Passage des Tierkörpers (in Fäkalpartikeln) können diese Keime in die Milch gelangen und deren Qualität sowohl in hygienischer Hinsicht wie in einer für Käsereizwecke nachteiligen Weise beeinflussen. Nach Verf.s Ansicht wären sie nur bei aseptischem Melken und „einem amikroben Filtrieren“ (?) auszuschließen; da dies im allgemeinen nicht gewährleistet ist, sei die Schnitzelfütterung bei Milchkühen am besten ganz zu unterlassen. — Der Herausgeber des „Milchwirtschaftlichen Zentralblatts“ bemerkt mit Recht hierzu, daß es schon bei Anwendung verhältnismäßig einfacher Vorsichtsmaßregeln recht wohl möglich ist, auch bei (natürlich nicht übertriebener) Schnitzelfütterung einwandfreie Milch zu gewinnen. Löhnis.

Burri, R. und Kürsteiner, J. Zur Klärung der Anschauungen über die reduzierenden Eigenschaften der Kuhmilch. Milchw. Zentralbl., **41**, 1912, S. 41—44, 68—74, 101—105, 134—140, 168—172.

Als Ursache der Reduktion des Methylenblaues in der bei Temperaturen unterhalb 50° C aufbewahrten Milch kommt fast allein die Bakterien-Tätigkeit in Frage, und zwar handelt es sich allem Anscheine nach um eine direkte Wirkung des Zellplasmas oder von Plasmabestandteilen, nicht von Enzymen. Die anderen Zellbestandteile (Leukozyten usw.) mögen in Mastitis- und Colostrummilch von einiger Bedeutung sein. Antiseptisch wirkende Substanzen hemmen beide Arten von Reduktionserscheinungen. Der Einfluß der Milchzellen bleibt noch (an steril gewonnener, anaerob aufbewahrter Milch) näher zu prüfen. Erhitzte Milch wirkt reduzierend, weil in ihr Schwefelwasserstoff, Ameisensäure und andere reduzierende Substanzen vorhanden sind. Diese Reduktionserscheinung tritt am deutlichsten hervor, wenn die Proben unter Pyrogallol-Verschluß bei 70—90° C aufbewahrt werden. Bei 38° C kommt sie nur in stark erhitzter Milch zur Geltung. Längere Zeit an der Luft aufbewahrte Proben reduzieren (wegen inzwischen eingetretener Sauerstoff-Absorption) nicht mehr. Mit Rücksicht auf die geringe Haltbarkeit der Methylenblau-Lösungen ist für exakte Versuche Innehaltung einer bestimmten Konzentration resp. deren Kontrolle unentbehrlich.

Die Formalin-Methylenblau-Reduktionsprobe muß bei 70° C angestellt werden. Nur in diesem Falle tritt das die reduzierende Wirkung des Formaldehyds beschleunigende und deshalb am besten als „Formaldehydase“ zu bezeichnende Enzym allein in Tätigkeit. Bei niedrigeren Temperaturen (45° C) kommt es infolge Mitwirkung der Bakterien-Reduktion zu Mischreaktionen.

Löhnis.

Weigmann und Wolff, A. Weitere bakteriologische Untersuchungen aus der milchwirtschaftlichen Praxis. Milchw. Zentralbl., **41**, 1912, S. 2—6, 65—68, 97—100, 129—134.

Langsam säuernde, fehlerhafte (bittere, ranzige oder schwer zu verbutternde) Milchproben erwiesen sich abnorm arm an Milchsäurestreptokokken, dagegen relativ reich an Varietäten des B. lactis innocuus Wilde, Fluorescenten, gelben und weißen Kokken. In vorzeitig gerinnender Milch traten verschiedene labproduzierende Organismen (Sporenbildner, Fluorescenten u. a.) allein oder neben Milchsäurebakterien in Tätigkeit. Die Kombination mit Coli-Aerogenes-Varietäten führte zur ausgesprochen „käsigen“ Gerinnung. Naturgemäß wurden auch Geschmack und Geruch der Milch je nach Art und Mischung der anwesenden Keime abweichend beeinflußt.

Export-Dosen-Milch war oft infolge nachträglicher Infektion undichter Büchsen verdorben. Für eine andere fehlerhafte Änderung von Farbe und Konsistenz mußte das angewandte Lötmittel verantwortlich gemacht werden.

In öligen und anderen schlecht schmeckenden Butterproben traten Milchzucker vergärende Hefen stark in den Vordergrund. Schimmelpilze gaben Anlaß zum Auftreten roter und grüner Flecke.

Von den Beobachtungen über Käsefehler ist ein in einer Quargkäserei konstatierter Fall bemerkenswert, in dem die Käschen sich mit einer runzligen, mehlig bestäubten, leicht ablösbaren Oidium-Haut überzogen, unter der starke Erweichung des Käseteiges Platz griff. Impfung mit Mycoderma casei half in Verbindung mit kühler Lagerung der Käse dem Übelstande ab.

Löhnis.

Wehmer, C. Die Natur der lichtbrechenden Tröpfchen in den Sporen des Hausschwamms (Merulius lacrymans). Ber. Deutsch. Botan. Gesellsch., Bd. 29, 1911, S. 483—487.

Über die chemische Natur der in den Hausschwammsporen auftretenden, stark lichtbrechenden Inhaltströpfchen sind schon die verschiedenartigsten Ansichten ausgesprochen worden. Nach den Untersuchungen des Verf. ist es wahrscheinlich, daß diese Inhaltskörper aus einem ätherischen Öl bestehen, das vielleicht die Ursache des championartigen Geruches der trockenen Hausschwamm-Fruchtkörper darstellt. Über die Morphologie der Sporen verschiedener Merulius-Arten macht Verf. im Anschluß daran einige Mitteilungen.

J. Weese, Wien.

Brick, N. Zythia resinae (Fr.) Karst. als unangenehmer Bauholzpilz. Jahresber. Vereinig. f. angew. Botanik, Bd. 8, 1911, S. 164—170.

Auf Kiefernholz, das zu Fensterrahmen und Türen verwendet und mit einem weißen Ölfarbenanstrich versehen war, zeigten sich auf der weißen Farbe violette bis schmutzigrote Flecken. Manche Stellen waren direkt von rauchgrauer bis dunkelgraubrauner Farbe. Verf. fand an den verfärbten Stellen in großer Menge Pyknidengruppen von Zythia resinae (Fr.) Karst., welcher Pilz bisher nur auf frischem Kiefernharze gefunden wurde und zu den Nectrioidaceae-Zythieae gehört.

Das braune Myzel des Pilzes wächst in den Harzkanälen des Holzes und in den diese begleitenden Holzparenchymzellen, dringt jedoch auch in die mittlere Markstrahlenschicht ein.

Die Farbe der Pykniden schwankt, ebenso die Sporengröße.

J. Weese, Wien.

Bittmann, Otto. Schwarzwerden von Zelluloseholz. Österr. Forst- und Jagdzeitung, Jahrg. 29, 1911, S. 40.

Verf. berichtet über die stellenweise Schwarzfärbung der Schnittflächen der längere Zeit auf Holzlagerplätzen aufgestapelten Nutz- und Brennhölzer, hauptsächlich Rot- und Weißbuche, Ruster, Ahorn- und Eichenarten, in geringerem Maße Linde, Pappel- und Nadelholzarten, die durch Bispora monilioides Corda (Dematiaceae) verursacht wird.

Als Vorbeugungsmittel gegen das Auftreten dieses Saprophyten empfiehlt der Verf. rascheste Abfuhr des Holzes aus dem Walde und wenn dies nicht möglich ist. Aufstapelung der Vorräte an trockenen, luftigen Orten.

J. Weese, Wien.

Schorstein, Josef. Pilze an Kiefernschwellen. Österr. Forst- und Jagdzeitung, Jahrg. 29, 1911, S. 111.

Die zu Eisenbahnschwellen verwendeten Holzstücke dürfen laut Vorschrift nicht „schwammig" sein. Verf. weist darauf hin, daß diese Forderung verschieden aufgefaßt werden kann und daß, da es absolut pilzfreie Schwellen nicht gibt, eine richtige Beurteilung der allenfalls auffallend verpilzten Schwellen nur nach richtiger Unterscheidung der Pilzarten möglich ist, weil nicht alle Pilzbildungen, wenn sie auch reichlich auftreten, den Wert bedeutend verringern.

So schädigt Peniophora gigantea (Fr.) Cooke (= Kneiffia gigantea (Fr.) Bres.) nur die oberste Schichte, die für die Verwendung von keiner Bedeutung ist. Ein Laie würde den Pilz für einen argen Schädling halten. Etwas tiefer dringt Corticium sanguinolentum (Alb. et Schw.) Fr. in das Splintholz ein, während Polyporus amorphus und Lenzites saepiaria Fr. die Föhrenschwellen ernstlich entwerten können. J. Weese, Wien.

Lindner, P. z. T. in Gemeinschaft mit dem Dipl.-Brauereiingenieur Stefan Cziser. Der Alkohol, ein mehr oder weniger ausgezeichneter Nährstoff für verschiedene Pilze. Wochenschr. f. Brauerei 29, 1912, Nr. 1, S. 1.

Nachdem außer von Schulz in der Zeitschrift „Weinbau" 1903, S. 91 keine Angaben über das Verhalten der Hefen gegen Alkohol vorliegen, wurde Stefan Cziser von Lindner beauftragt, eine orientierende Versuchsreihe mit verschiedenen Kulturen auszuführen. Es wurden verwandt S. thermantitonum, S. Pastorianus I und III, S. ellipsoideus, Fruchtätherhefe, S. hyalosporus, S. farinosus, S. Ludwigii, Schizos. Pombe und Endomyces Magnusii, welche in eine Nährlösung eingeimpft wurden, die in Leitungswasser 0,025 % $MgSO_4$, 0,5 % KH_2PO_4 und 0,5 % $(NH_4)_2SO_4$ aufgelöst enthielt. Zu je 5 ccm in Vierkantfläschchen mit Wattepfropf gebrachter steriler Nährlösung wurden 0,08 ccm abs. Alkohol (= 1,6 %) als Kohlenstoffquelle zugefügt und die geimpften Fläschchen bei 23—26° C stehen gelassen. Innerhalb 7 Tagen zeigten deutliches Wachstum S. thermantitonum, Endomyces Magnusii, Fruchtätherhefe und S. farinosus, letztere Hefe das üppigste. Nach Vermehrung des Alkoholgehalts bis 4 % zeigte sich bald verstärktes Wachstum der letzten drei Organismen. Dann wurden je 25 ccm der Nährsalzlösung in 100 ccm-Flaschen verwendet und geimpft, mit und ohne Alkoholzusatz und die Kultur teils bei 23—26° C, teils bei 6—8° C bei täglich einmaligem leichten Umschütteln durchgeführt, wobei sich nach 7tägiger Beobachtung ergab, daß selbst in den Flaschen mit rein mineralischer Ernährung bei 23—26° C eine ganz schwache Vermehrung beobachtet wurde, daß aber das Wachstum in den mit

Alkoholzusatz versehenen Kulturen auffallend kräftiger, namentlich bei den letztgenannten vier Arten war.

Fast keine Vermehrung trat bei S. thermantitonum, Fruchtätherhefe und Endomyces Magnusii bei 6—8° C ein. Durch eine Erhöhung des Alkoholgehaltes auf 4 % wurden die Unterschiede zwischen den Kulturen ohne und mit Alkoholzusatz immer deutlicher.

Weitere bei 36—42° C beobachtete Kulturen der Fruchtätherhefe, von S. farinosus und Endomyces Magnusii in Nährlösung mit 2 % Alkohol lieferten ein negatives Resultat; ebenso war die Vermehrung dieser Organismen bei 23—26° C in mit Korkstopfen verschlossenen Flaschen geringer als in jenen mit Watteverschluß, wurde aber wieder kräftiger, nachdem der Korkverschluß mit einem solchen von Watte vertauscht worden war. Die ausgeführten Alkoholbestimmungen ergaben, daß S. farinosus 0,24, die Fruchtätherhefe 0,22 und Endomyces Magnusii 0,21 % Alkohol verbraucht haben. Lindner bezeichnet mit Recht die im Filtrat direkt ohne vorhergegangene Destillation ausgeführten Alkoholbestimmungen als nicht einwandfrei und meint, daß die Versuche unter Berücksichtigung dieses Umstandes wiederholt werden müssen.

Über Anregung von Lindner wurde von Cziser auch ein Versuch mit dampfförmigem Alkohol gemacht und konstatiert, daß sich auch hierdurch die drei letztgenannten Organismen erheblich vermehrten.

Die negativen Befunde, welche sich in der mitgeteilten Versuchsreihe vorfinden, führt Lindner auf die bekannte Tatsache zurück, daß viele Hefen und Pilze in Ammonsalzen als Stickstoffquelle nicht wachsen.

Dem Einwand, daß die Kohlenstoffernährung in den mit Watteverschluß ausgeführten Kulturen möglicherweise auf Kosten des Kohlensäuregehaltes der Laboratoriumsluft stattgefunden habe, begegnet Lindner, indem er bemerkt, daß dem die Ergebnisse der Versuche, bei welchen dampfförmiger Alkohol zugeführt wurde, entgegenstehen.

Die in der Tabelle niedergelegten Resultate orientieren, wie von Frl. Toni Unger ausgeführte Versuche lehren, daß nicht nur Kahmhefen, sondern auch andere Mikroben, namentlich Schimmelpilze Alkoholfresser sind, während die Hefen der Brauereien, Brennereien und Preßhefefabriken unter den angewandten Bedingungen, von Ausnahmen abgesehen, nur wenig Alkohol assimilieren, jedoch ist das Verhalten dieser Organismen gegenüber Alkohol bei einer Stickstoffernährung noch aufzuklären. Lindner ist der Meinung, daß der Alkohol unter allen Umständen auch Nährstoff ist und daß er insbesondere in 4 %iger alkoholischer Lösung als mehr oder weniger ausgezeichnetes Nährmittel und nicht als Plasmagift wirkt.

Die bisherige Auffassung, daß der Alkohol von den ihn assimilierenden Organismen verbrannt bezw. veratmet würde, ist nicht mehr aufrecht zu erhalten, da er Vermehrung, also Umbildung der Körpersubstanz bewirkt.

Die in der Versuchsreihe ebenfalls angeführten Resultate, bei welchen Dextrose als Kohlenstoffquelle benutzt worden war und negative Ergebnisse

gegenüber der Alkoholernährung ergeben hatten, glaubt Lindner damit erklären zu können, daß diese Organismen Dextrose nicht assimilieren und demgemäß hier ein Beispiel vorliege für die gelegentliche Überlegenheit des Alkohols gegenüber Traubenzucker.

Bei der Alkoholassimilation haben die am kräftigsten wachsenden Organismen am meisten Säure gebildet, welche nach Lindner freie Schwefelsäure, aus dem zugefügten Ammoniumsulfat gebildet. möglicherweise aber auch organischer Natur, durch Oxydation des Alkohols entstanden, sein kann.

Nach Ansicht des Referenten ist es für die Frage der Alkoholassimilation und des Chemismus derselben von hoher Bedeutung, die Natur und Menge der gebildeten Säuren und ihren Ursprung einwandfrei zu bestimmen.

In einer Nachschrift macht Lindner darauf aufmerksam, daß Heinrich Hesselbring in The Botanical Laboratory 1908 und in The Botanical Gazette 45, 176—193, März 1908, das Wachstum von Penicillium bei Alkoholzusatz und F. Ehrlich die Assimilierbarkeit des Alkohols durch Hefen (Willia anomala) und Schimmelpilze (Oidium lactis, Rhizopus nigricans) in der Biochemischen Zeitschrift 1911, Bd. 36, Heft 5 und 6 nachgewiesen haben.

Prior.

Herter, W. Die Sexualität der Pilze. Wochenschr. f. Brauerei 29, 1912, Nr. 2 u. 3.

Verfasser bespricht ausführlich die Sexualvorgänge in dem Reiche der Pilze und gibt eine ausführliche Zusammenstellung des heutigen Standes unserer Kenntnisse hierüber. Da eine Wiedergabe des Inhaltes ohne die im Original enthaltenen Abbildungen nicht gut möglich ist, muß auf das Original verwiesen werden.

Prior.

Will, H. und Heuß, R. Essigsäuremethylester als Kohlenstoffquelle für Hefe und andere Sproßpilze. Zeitschrift für das gesamte Brauwesen, 35, 1912, Nr. 11, Seite 128.

Schon seit längerer Zeit mit Untersuchungen über das Verhalten von Estern gegen Hefen und andere Sproßpilze beschäftigt, haben die Verfasser Beobachtungen gemacht, die sie im Hinblick auf Veröffentlichungen von F. Ehrlich[1]) und P. Lindner[2]) zur Bemerkung veranlaßten, daß eine Reihe gleichartiger und ähnlicher Versuche auf jenem Gebiet teils schon gemacht, teils geplant ist, deren Ergebnisse zur gegebenen Zeit ausführlich mitgeteilt werden.

Bei einem Versuch mit gehopfter Bierwürze, die einen Zusatz von Essigester in bestimmten Abstufungen erhalten hatte, ergab sich bei einem für die verschiedenen Hefen wenn auch nur wenig verschiedenen Prozentgehalt von Essigester zuerst eine deutliche Hemmung gegenüber dem Kontrollversuche,

[1]) Biochemische Zeitschrift 1911, 36, S. 477.

[2]) Wochenschrift für Brauerei 1912, 29, S. 1.

dann aber normales Wachstum und teilweise sogar eine starke Förderung der Vermehrung, woraus Verfasser vermuten, daß die betreffenden Sproßpilzarten den Essigester assimilieren, also zum Aufbau ihrer Körpersubstanz verwerten.

Es wurden nun Versuche zunächst mit einer Reihe von hautbildenden Sproßpilzarten, die sich hauptsächlich durch Oberflächenwachstum vermehren, in einer Nährlösung, welche 1% $(NH_4)_2$ SO_4, 0,8% K_2HPO_4, 0,3% $MgSO_4$, 0,05% KCl und als einzige Kohlenstoffquelle Zusätze von Essigester in verschiedenen Mengen enthielt, durchgeführt, wobei als Vergleich einerseits dieselbe Nährlösung mit 10% Dextrose als Kohlenstoffquelle, andrerseits die rein mineralische Lösung ohne Ester- und Dextrosezusatz diente.

Verwendet wurden Mycoderma vilida Leberle, Mycoderma decolorans Will, Torula Nr. 12 Will, Torula Nr. 15 Will, Willia anomala var. II Steuber, Willia anomala Hansen und Pichia membranaefaciens Hansen mit Zusätzen von 0,5, 1, 3 und 5% des Esters zur Nährlösung.

Die erhaltenen Ergebnisse sind folgende:

Die Vermehrung der Organismen bei Esterzusatz bleibt im Anfang bei Laboratoriumtemperatur gegenüber den Kulturen mit Dextrosezusatz zurück, jedoch war in allen Fällen auch hier schon nach verhältnismäßig kurzer Zeit, teilweise sogar in den Kulturen mit dem relativ großen Zusatz von 5% Ester eine Vermehrung erkennbar, wobei Umfang und Stärke der auf der Oberfläche der Flüssigkeit gebildeten Haut wenigstens bei geringeren Zusätzen in einem gewissen Abhängigkeitsverhältnis von der Estermenge standen. Das Oberflächenwachstum, das teilweise ein recht beträchtliches war, erreichte aber in keinem Fall jenes der Kulturen mit Dextrosezusatz.

In der rein mineralischen Nährlösung — ohne Ester und Dextrose — erschien es zweifelhaft, ob nicht doch eine sehr geringe Vermehrung eingetreten war, auch wurde nach einer Beobachtungszeit von 23 Tagen festgestellt, daß die Zellen der Oberflächenvegetation zum größten Teil noch lebten, sich in Sprossung befanden und in Würze innerhalb 5 Tagen bei Laboratoriumtemperatur starke normale Oberflächenvegetation entwickelten.

Demnach fand auch in der rein mineralischen Lösung ohne Kohlenstoffzusatz eine, wenn auch nur kümmerliche Vermehrung statt.

Die durch die Versuche dargetane Fähigkeit der angewandten Sproßpilze, Essigester zu assimilieren und eine verhältnismäßig starke Vermehrung der Zellen zu unterhalten, beweisen, daß sie nicht nur wie bekannt Alkohol- und Säureerzeuger bezw. Verzehrer und nicht nur Estererreger, sondern auch Esterverzehrer sind.

Diese Fähigkeit ist, wie die Verfasser richtig bemerken, von praktischer Bedeutung insofern, als die von den Sproßpilzen erzeugten Alkohole, Säuren und Ester unter bestimmten Bedingungen von denselben wieder verzehrt werden, wodurch ihre Vermehrung gesteigert wird, die anscheinend so gefördert werden kann, daß die dabei entstandenen und übrigbleibenden Um-

setzungsprodukte, besonders Alkohol und Säure, wenn auch nicht den Tod, so doch wenigstens Hemmung und schließlich Stillstand der Vermehrung herbeiführen. Prior.

Schönfeld, F. und Himmelfarb, G. Vorsicht bei der Verwendung von Formaldehyd zur Desinfektion (Biertrübung). Wochenschr. f. Brauerei 29, 1912, Nr. 10, S. 125.

Außer den schon früher von Bode nachgewiesenen Krustenbildungen in Rohrleitungen, welche längere Zeit mit Formaldehyd desinfiziert worden waren, und den bei relativ größeren Formalinzusätzen zur Würze auftretenden Trübungen, sind auch seitens der Praxis bei der Desinfektion von Transportfässern mit Formaldehyd Trübungen im Bier aufgetreten, für welche die Anwendung von Formaldehyd verantworlich gemacht wurde. Die Trübung war in allen Fällen eine milchige und entsteht nach den experimentellen Untersuchungen der Verfasser schon durch Zusatz minimaler Gaben, denn schon solche sind imstande, die Klarheit des Bieres zu beeinträchtigen. Bei ihren Untersuchungen haben die Verfasser auch den Einfluß der Temperatur berücksichtigt und gefunden, daß die Biertrübungen durch Formaldehyd um so eher und stärker auftreten, je niedriger die Temperatur ist, was auf Eiweißfällung hinweist.

Wie intensiv die die Klarheit des Bieres beeinträchtigende Wirkung des Formaldehyds ist, beweist der Umstand, daß schon $^3/_{10}$ mg Formaldehydzusatz auf 100 g helles Bier demselben Glanz und Feuer benahm und nach einigen Tagen eine schwache Trübung veranlaßte. Diese Veränderung trat indessen nicht plötzlich, sondern nach einigen Tagen und nur bei 0—1° C ein, während bei 10—15° C der Minimalzusatz von $^3/_{10}$ mg Formaldehyd keine Wirkung hervorrief.

Dagegen trat in demselben Bier bei einem Zusatz von $^8/_{10}$ mg starke Trübung auch bei höherer Temperatur auf, wenn auch nicht in demselben Maße wie bei tiefen Temperaturen. Die meist aus Eiweiß bestehenden Ausscheidungen erwiesen sich unter dem Mikroskop als kleine, teils einzeln, teils zu zwei und mehr gruppierte Kügelchen.

Weniger empfindlich als das helle Bier ist das dunkle, bei welchem der Minimalzusatz von $^3/_{10}$ mg Formaldehyd auch bei tiefer Temperatur einflußlos war; Zusätze von $^8/_{10}$—2,4 mg waren bei dunklem Bier bei 10—15° C. ohne Einfluß, bei 0—1° C traten aber auch hier in allen Fällen Trübungen auf.

Die erhöhte Empfindlichkeit der hellen Biere gegenüber den dunklen führen Verfasser auf den höheren Gehalt derselben an gewissen Eiweißstoffen, welche mit Formaldehyd zur Ausscheidung gelangen, eventuell auf eine Änderung des Gleichgewichtszustandes, in welchem sich die kolloidalen Eiweißstoffe befinden, der bei hellen Bieren leichter aufgehoben wird als bei den dunklen auch bei gleichem Eiweißgehalt, zurück.

Bei Temperaturen von 25—30° C nimmt der Grad der Trübung ab; bei lichten Bieren läßt sich die Trübung auch nur in den seltensten Fällen ganz beseitigen, während es bei den dunklen Bieren verhältnismäßig leicht gelingt, die Trübung durch Wärme zu beseitigen. (Ich kann die hohe Empfindlichkeit der lichten Biere bei geringsten Formaldehydzusätzen auf Grund ähnlicher, leider nicht publizierter Versuche, die H. Wichmann auf meine Veranlassung im Jahre 1906 an der österr. Versuchsstation für Brauindustrie ausgeführt hat, bestätigen. Prior.) Prior.

Schönfeld, F. und Hirt, W. Chemische Zusammensetzung von untergärigen Betriebshefen in Beziehung zu dem Verhalten bei der Gärung. Wochenschr. f. Brauerei, 1912, Nr. 12, S. 157 u. Nr. 13, S. 174.

Bezugnehmend auf eine frühere Arbeit von Schönfeld und Krampf (Wochenschr. f. Brauerei 1911, Nr. 14 u. f.) über die chemische Zusammensetzung von obergärigen Hefen und auf die Mitteilungen von Schönfeld im Jahrbuch 1911, S. 86, sowie auf frühere der beiden Verfasser bringen dieselben nun eingehende Mitteilungen über Versuche mit mehreren untergärigen Stellhefen, welche in verschiedenen Brauereien unter ganz bestimmten physiologischen Bedingungen arbeiten und sich dabei zu Hefen von bestimmten Erscheinungsformen entwickelt haben.

Die verwendeten Hefen werden in vier Gruppen geteilt:

I. Gruppe: Hefen mit kurzer Gärdauer (bis zu 8 Tagen) und starker Bruchbildung.
II. Gruppe: Hefen mit mittlerer Gärdauer und mittelguter Bruchbildung.
III. Gruppe: Hefen mit langer Gärzeit und sehr mäßiger Bruchbildung.
IV. Gruppe: Hefen mit langer Gärdauer und schlechter Bruchbildung.

Die chemische Untersuchung der Hefen erstreckte sich auf die Bestimmung des Gehaltes an Eiweiß, Asche und Gesamtphosphorsäure, die physikalische auf spez. Gewicht, Absetzungsvermögen und Flockenfestigkeit (Bruchbildung), die physiologische auf die Feststellung der Triebkraft.

Der Gehalt der Hefen an Eiweiß schwankte zwischen 56,25—67,1 %, an Asche zwischen 5,27—9,08 %, die überwiegende Anzahl der Hefen in Gruppe I enthielt mehr als 8,5 % Asche, die der II. Gruppe annähernd 8 % und darüber, die der III. Gruppe etwa 8 %, während die Hefe der Gruppe IV, es wurde nur eine Hefe untersucht, nur 5,07 %, also einen ausnahmsweise geringen Aschengehalt besitzt. Obgleich Hefen untersucht wurden, welche nicht entsprechende Aschengehalte aufwiesen, scheint nach den Verfassern die Höhe des Aschengehaltes mit der Geschwindigkeit der Vergärung und Bruchbildung einer Hefe zusammenzuhängen in der Art, daß je schneller die Hefe gärt und Bruch bildet, desto höher auch der Aschengehalt zu sein pflegt.

Dagegen steht die Höhe des Eiweißgehaltes mit dem Aschengehalt nicht in Beziehung, auch konnte weder eine Beziehung des Gehaltes der Asche an Phosphorsäure mit der Hefetrockensubstanz, noch eine solche zur

Natur der Hefe, ob rasch oder langsam vergärend, festgestellt werden. Nur bei zwei vergleichsweise mitgeführten Hefen der V. L. B. wurde die schnellgärende gegenüber der langsam gärenden und schlecht klärenden als die aschereichste Hefe mit höherem Gehalt an Phosphorsäure nachgewiesen.

Was die gefundenen spez. Gewichte der Hefen betrifft, besteht, selbst unter Berücksichtigung nicht unerheblicher Abweichungen der Werte zwischen den einzelnen Hefen der nämlichen Gruppe, insofern ein Zusammenhang, als besonders die Mittelzahlen der I. bzw. II. Gruppe wesentlich verschieden von jenen der Gruppe III sind. Die stark bruchbildenden, schnellgärenden Hefen der Gruppe I, ebenso jene der II. Gruppe, besitzen ein niedrigeres spez. Gewicht, während die Hefen der III. Gruppe, also der weniger schnell gärenden und minder guten Bruch liefernden, ein hohes spez. Gewicht ergeben.

Die von den Verfassern vorgenommenen Versuche, die Schnelligkeit des Absetzens der Hefe und die Dichte des Bodensatzes in regelrechte Beziehungen zu bringen, lieferten ein negatives Resultat, obgleich in vielen Fällen, namentlich bei Hefen aus demselben Betrieb, brauchbare Werte gefunden wurden. Dieses negative Ergebnis wird auf den Einfluß von nicht gewollten Faktoren, die bei solchen Untersuchungen im kleinen nicht umgangen werden können, zurückgeführt.

Die Prüfung der Hefen auf Flockenfestigkeit ergab, daß Unterschiede vorhanden sind, doch ließ sich bei der angewandten Prüfungsmethode kein engerer Zusammenhang in bezug auf das Verhalten der Hefen bei der Gärung erbringen.

Die Triebkraft der Hefen steht im großen und ganzen zu ihrem Eiweißgehalt in Beziehung; es steigt und fällt die Triebkraft mit dem Eiweißgehalt, dagegen ergeben sich keine Beziehungen zwischen dem Gärvermögen bzw. Vergärungsgrad des Bieres und der Triebkraft.

Als günstigste Temperatur für die Entwicklung der Triebkraft bei den möglichst gleich vorbehandelten Hefen wurden 35° gefunden, denn sowohl bei 30° als auch bei 40° war die Triebkraft geringer.

Unter Berücksichtigung der chemischen Zusammensetzung des Brauwassers schließen die Verfasser über die Beziehungen zwischen diesem und der Hefebeschaffenheit bzw. dem Ausfall der Gärung, daß Brauwasser, in welchen das Kalzium- bzw. Magnesiumkarbonat das Kalziumsulfat bzw. die Sulfate überwiegt, die Gärung beschleunigt und die Bruchbildung begünstigt, während Wasser, in welchem der Sulfatgehalt den Karbonatgehalt übersteigt, die Gärung verlangsamt und die Bruchbildung beeinträchtigt.

Die bei einigen Hefen gefundenen entgegenstehenden Ergebnisse erklären Verfasser durch andere Umstände, wie zu große Gärgefäße u. dergl. Auch kommt es, wie die Versuche mit Hefen der Hochschulbrauerei ergaben, sehr auf die Anlage der Hefen zur Bruchbildung an und können solche Hefen auch rasch verlaufende Gärung und gute Bruchbildung bei Verwendung von an Sulfaten reichem Brauwasser bewirken.

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in folgender Schlußzusammenfassung niedergelegt: die bruchbildenden Hefen unterscheiden sich von den keinen oder schlechten Bruch liefernden: a) durch höheren Eiweißgehalt; b) durch höheren Gehalt an anorganischen Bestandteilen; c) durch höheren Gehalt an Phosphorsäure; d) durch höheren Gehalt an Magnesia; e) durch höhere Triebkraft; f) durch niedrigen Gehalt an Glykogen; g) durch höheren Gehalt an löslicher Phosphorsäure; h) durch höheren Gehalt an löslicher anorganischer und organischer Phosphorsäure; i) durch höheren Gehalt an löslicher Magnesia. Prior.

Moufeng, Ed. Über Wirkungen von Formalin auf Bier. Wochenschr. f. Brauerei 29, 1912, Nr. 13, S. 173.

Die Beobachtungen, welche Verfasser bei der Verwendung von Formalin zur Desinfektion veröffentlicht, bestätigen die von F. Schönfeld und G. Himmelfarb, bringen aber auch noch einige weitere neue Gesichtspunkte.

Moufeng fand nämlich, daß sowohl die Darrführung als auch das Maischverfahren einen wesentlichen Einfluß auf die Wirkung der Formaldehydreaktion des Bieres auszuüben vermögen, daß das aus Malz mit höherer Abdarrung erzeugte Bier, ebenso wie jenes, bei welchem das Malz vor der Vermaischung eingeteigt oder, wie man jetzt sagt, vorgemaischt wurde, gegen Formaldehyd unempfindlicher wurde.

Verfasser, der einen Versuch mit Pepton-Witte machte, dessen Lösung selbst in sehr großen Verdünnungen durch Formaldehyd zersetzt wurde, neigt der Ansicht zu, daß die Formaldehydreaktion einen Hinweis auf unvollständig abgebaute Eiweiße in Würzen und Bieren darstellt und als solche Verwendung finden könnte. Prior.

Will, H. Die biologische Untersuchung von Farbebier, Farbebierextrakten und Farbeextrakten. Zeitschr. f. das gesamte Brauwesen 35, 1912, Nr. 12.

Nachdem über die biologische Untersuchung jener Erzeugnisse, welche zum Färben von Bier zugelassen sind, sich bislang keine Mitteilungen vorfinden und die auf ältere Untersuchungen gestützte Annahme, daß die Farbebiere aus hochgeröstetem Farbmalz ihres Gehaltes an Röstprodukten halber der Entwicklungsfähigkeit von Organismen entgegenstehen, die aber nach den vorliegenden Erfahrungen in der Allgemeinheit nicht zutreffen und daher einer Nachprüfung bedürfen, unterzog H. Will 54 im Handel vorkommende Färbepräparate einer eingehenden Prüfung unter teilweise neuen Gesichtspunkten.

Die zum Färben des Bieres bestimmten Produkte scheidet Verfasser in drei Gruppen, von welchen zwei die durch Gärung erzeugten betreffen. In die erste Kategorie gehören die auf übliche Weise aus Gemischen von Malz mit Farbmalz bereiteten hochprozentigen Würzen, welche den natürlichen Extrakt- und Alkoholgehalt, der im allgemeinen nicht hoch ist, besitzen, die eigentlichen Farbebiere, während in die zweite Gruppe die Farbebier-

extrakte fallen, das sind jene Farbebiere, die nach der Vergärung eingedickt wurden, wodurch der Extraktgehalt und damit die Färbekraft erhöht, der Alkoholgehalt aber auf eine geringe Menge reduziert wird oder auch ganz fehlt.

Die dritte Gruppe umfaßt die unvergorenen Farbmalzextrakte, welche als Farbeextrakte bezeichnet werden. Die Farbebiere kommen pasteurisiert und nicht pasteurisiert in den Handel. Will weist einleitend darauf hin, daß sowohl die Farbebierextrakte als auch die Farbeextrakte infolge ihrer Herstellungsweise eigentlich frei von lebenden Organismen sein müßten, daß aber auch der hohe Gehalt an Röstprodukten sie nicht völlig gegen das Aufkommen von Organismen schützt, wenn sie einer nachträglichen Infektion beim Abfüllen oder in den Fässern ausgesetzt sind. Die Farbeextrakte schimmeln erfahrungsgemäß auch leicht. Nachdem Verfasser auf die Schwierigkeit der Prüfung dieser Produkte infolge ihrer dunklen Färbung und der dadurch bedingten Undurchsichtigkeit, welche Trübungen u. dergl. nicht erkennen lassen, hingewiesen und darauf aufmerksam gemacht hat, daß beim Verdünnen mit Wasser zur Behebung dieses Übelstandes gewisse Trübungen verschwinden bezw. nicht erkannt werden, und die Bildung von Bodensätzen sowie das Erkennen derselben durch die Dickflüssigkeit der Produkte vielfach verhindert wird, also die Merkmale entfallen, welche zur Begutachtung der Haltbarkeit gewöhnlicher Biere dienen, werden zunächst die normalen Bestandteile der Absätze aufgeführt. Diese sind oxalsaurer Kalk, welcher sich nicht immer, jedoch sehr häufig in großen Kristallen in Oktaederform, in der Regel jedoch in kleinen Kriställchen, die zuweilen zu Konglomeraten angehäuft sind, vorfinden, dann Hefezellen und Eiweißausscheidungen. Die Hefezellen sind in den Farbebieren, je nachdem dieselben pasteurisiert sind oder nicht, entweder tot oder lebend, während bei den Farbebierextrakten normalerweise nur tote Hefezellen vorhanden sein sollten. Die Anwesenheit von lebenden Hefezellen in pasteurisierten Farbebieren oder Farbebierextrakten führt Will ebenso wie lebende Torulazellen und Bakterien auf nachträgliche Verunreinigungen zurück.

Aus den erhaltenen Resultaten ergibt sich, daß sich unter den untersuchten, zum Färben des Bieres bestimmten Erzeugnissen nur sehr wenige befinden, die frei von entwicklungsfähigen Organismen waren. Es befanden sich darunter auch schlecht verzuckerte Produkte, welche Stärke ausgeschieden hatten und daher erfahrungsgemäß für Bierschädlinge einen guten Nährboden abgeben.

Am häufigsten wurden in den Bieren und Extrakten Stäbchenbakterien, darunter die großen Milchsäurestäbchen und Essigsäurebakterien, gefunden, von welchen die letzteren auch bei der Färbung von pasteurisiertem Bier zur Entwicklung kamen. In wenigen Fällen, die als solche bedenklich bezeichnet werden, fanden sich reichliche und in einem Fall enorme Mengen von Pediokokken. Ferner wurden häufig wilde Hefen, Torulaarten und Mykoderma

gefunden, während die sich häufiger in den Absätzen vorfindenden Kulturhefen weniger oft zur Entwicklung kamen. Auf einer Probe bildete Willia anomala eine Haut und in zwei Proben trat Schimmel, darunter eine Oidiumart, auf.

Will gelangt daher zu der Ansicht, daß der biologischen Kontrolle der Farbebiere und Extrakte eine größere Aufmerksamkeit zuzuwenden sei. Über die Art der Untersuchung, bezüglich deren Einzelheiten auf das Original verwiesen wird, sei folgendes bemerkt:

1. Die Haltbarkeitsprüfung wird in der bei Bier üblichen Weise bei Zimmertemperatur und im Falle die Frage nach der Haltbarkeit in heißen Klimaten gestellt ist, bei konstant hohen Temperaturen (bis zu 30° und darüber) durchgeführt. Die Beobachtungsdauer in dicht geschlossenen, anfangs teilweise unter Watteverschluß aufgestellten Flaschen beträgt 14 Tage, was unter Berücksichtigung des Umstandes, daß in den Farbebieren und Extrakten die Vermehrung der Organismen meist langsamer erfolgt als in gewöhnlichen Bieren, aber kurz erscheint, und darf daher die Haltbarkeit der Farbeerzeugnisse nur unter sich und nicht mit jener der normalen Biere verglichen werden. Die Erfahrungen des Verfassers haben indessen die eingehaltene Beobachtungszeit als genügend erwiesen. Die Haltbarkeit der untersuchten Proben war durchschnittlich eine gute, da eine außergewöhnliche Vermehrung der Organismen nicht stattfand und die Absatzbildung gering war.

2. Der richtige Nachweis der Entwicklungsmöglichkeit der vorhandenen Organismen in Mischungen von Bier mit den betreffenden Farbeprodukten innerhalb jener Grenzen, welche zur Erzielung einer bestimmten Bierfarbe erforderlich sind, wurde in folgender Weise geliefert. Zu einem $^1/_2$ Liter hellen pasteurisierten Bieres aus einer Münchner Brauerei wird soviel des Farbeproduktes zugefügt, bis die Mischung die Farbe des gewöhnlichen Münchner Sommerbieres, entsprechend Farbe 7 des Brandschen Kolorimeters, zeigt. Ferner wird eine $^1/_2$ Liter-Flasche mit sterilem destilliertem Wasser ebenfalls mit dem Farbeprodukt bis zu Farbe 7 nach Brand versetzt. Beide Flaschen werden geschlossen gewöhnlich bei Zimmertemperatur aufgestellt und während 14 Tage beobachtet.

3. Bei Anwesenheit größerer Sarcinamengen werden einige Tropfen der Farbesubstanz in 5 ccm Bettgeslösung eingeimpft.

Bei der Begutachtung der Farbeprodukte wird die Menge, die zur Erreichung der angegebenen Bierfarbe nötig war und der Infektionsgrad, hauptsächlich aber die Art der verunreinigenden Organismen und die Schnelligkeit ihrer Vermehrung während der 14tägigen Beobachtungsdauer berücksichtigt.

Wilde Hefen, Milchsäurestäbchen und Sarcinen werden als besonders bedenklich für das zu färbende Bier betrachtet.

Prior.

Euler, H. und Ohlsen, H. Über die Wirkungsweise der Phosphatese. Zeitschr. f. phys. Chem. 76, 1912, S. 468.

Die Verfasser suchen in dieser Arbeit zu erfoschen, durch welche Faktoren die Veresterung der Kohlehydrate zu dem Phosphorsäureester bedingt wird. Sie fanden, daß die Geschwindigkeit der Veresterung abnimmt, wenn die Phosphatmenge steigt. Die Phosphatbindung ist zu Anfang der Gärung eine größere als später. Wenn ein gewisser Überschuß an dem Phosphat vorhanden ist, so wird die Esterbildung gehemmt, wird aber ein Estersalz zugesetzt, so wird die Phosphatbindung erhöht. Das wirksame Enzym wird Hexosenphosphatese genannt. Das Natriumsalz des Kohlehydratphosphorsäureesters wird durch Zymin bzw. durch Hefepreßsaft hydrolysiert. Lebende Hefe vermag aber die Hydrolysierung nicht durchzuführen, da das genannte Salz nicht in die lebende Zelle einzudringen vermag. Läßt man aber eine Dextroselösung (20 $^0/_0$) durch lebende Hefe vergären, so wird die Reaktionsgeschwindigkeit durch Zusatz des Natriumsalzes des Kohlehydratphosphorsäureesters verdoppelt. Das Salz wird hierbei nicht verändert. Das Salz ist hierbei 10mal so wirksam als freies Natriumphosphat. Da das Salz des Esters hierbei gar nicht weiter angegriffen und zersetzt wird, scheint es die Rolle eines Katalysators zu spielen. Zikes.

Paine, S. G. Die Permeabilität der Hefezelle. Proc. Roy. Soc. Bd. 84, 1911, S. 289.

Anfängliche plasmolytische Versuche, die angestellt wurden, ließen es wahrscheinlich erscheinen, daß die Membran der Hefezelle für anorganische Salze im allgemeinen impermeabel ist, daß sie aber Substanzen wie Alkohol, Azeton, Harnstoff den Durchtritt gewährt. Später wurde durch exakte Versuche erkannt, daß Natriumchlorid, Ammoniumsulfat, Kupfersulfat, Natriumphosphat, Natriumhexosephosphat, Natriumarseniat von Hefe aus Lösungen von mäßiger Konzentration aufgenommen werden. Über die Einzeluntersuchungen sei auf das Original verwiesen. Zikes.

Neuberg, C. und Karczag, L. Die Gärung der Brenztraubensäure und Oxalessigsäure als Vorlesungsversuch. Ber. d. deutsch. chem. Ges. Jahrg. XXXXIV, 1911, Heft 13.

Unter dem Namen „zuckerfreie Gärungen“ haben Neuberg und seine Mitarbeiter die merkwürdige Erscheinung beschrieben, daß eine ganze Reihe nicht zu den Zuckern gehörige Substanzen mit Hefe in lebhafte „Gärung“ geraten. Verfasser waren bestrebt, dieses Phänomen im Laufe einer Vorlesung zu zeigen. Sie wählten hierzu die Vergärung von Brenztraubensäure und Oxalessigsäure durch Hefe und benutzten 1 $^0/_0$ Lösungen derselben in Schrötterschen Gärungskölbchen, welche sie nach Aufsetzen eines längeren Glasröhrchens am offenen Schenkel in ein mit Wasser gefülltes Becherglas bei 40^0 einsenkten. Nach 20—25 Minuten ist der geschlossene Schenkel zu zirka

$^3/_4$ bei Verwendung von Brenztraubensäure mit Gas gefüllt. Es wird ferner beschrieben, wie die beiden entstandenen Gärprodukte weiter untersucht werden. Das diese Gärung verursachende Enzym wurde Carboxylase genannt. Die Wirkung der Carboxylase besteht in einer Zerlegung der Brenztrauben- und Oxalessigsäure in Azetaldehyd und CO_2. Zikes.

Osterwalder, A. Über die Bildung flüchtiger Säure durch Hefe nach der Gärung bei Luftzutritt. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 32, 1912, S. 481.

Läßt man Hefe bei Luftzutritt gären, so beginnt nach einiger Zeit neuerliches Wachstum, wobei flockige oder glatte Auflagen neugebildeter Hefe entstehen. Bleibt hierbei die Hefe, z. B. Trauben- oder Obstweinhefe, 4—5 Monate stehen, so bildet sich 1,8 $^0/_{00}$ flüchtige Säure, wovon ein kleiner Teil während der Gärung, der größere erst nach derselben entsteht. Die Bildung der flüchtigen Säure nach der Gärung hängt mit dem Leben der Hefe innig zusammen und ist nicht eine einfache Oxydation des während der Gärung entstandenen Alkoholes.

Verfasser meint, daß die nachträglich gebildeten Hefezellen Ursache dieser Säurebildung sind. Zikes.

Naumann, C. W. Epicoccum purpurascens und die Bedingungen seiner Pigmentbildung. Hedwigia, Bd. LI, 1912, S. 135.

Verfasser hat sich mit der Farbstoffproduktion von Epic. purp. beschäftigt, welcher Pilz einen roten Farbstoff bildet, und betont, daß hierzu vorzüglich Magnesiaverbindungen in bestimmten Konzentrationen notwendig sind. Bei anorganischer Stickstoffnahrung, wie Nitraten, wird die Farbstoffproduktion durch Monosen, Biosen (Maltose) und auch durch gewisse Polyosen (Stärke) beschleunigt. Nitrate (KNO_3), $Mg(NO_3)_2$, $Ca(NO_3)_2$ erweisen sich als viel besser wie Amine und Ammoniumverbindungen. Sind beide Gruppen von Stickstoffquellen vorhanden, so ist die Farbstoffproduktion eine schwächere, da der Pilz vorzüglich die Stickstoffnahrung aus Ammoniumverbindungen usw. bezieht und die Nitrate, wenigstens anfänglich, nicht als Stickstoffquellen benutzt. Die Alkalität des Nährbodens hebt die Farbstoffbildung. Der Farbstoff wird im Dunkeln nicht zur Entwicklung gebracht. Auch in N- oder H-Atmosphäre, aber meist in CO_2-Atmosphäre wurde die Farbstoffproduktion beobachtet. Die Versuche wurden sowohl in Nährstofflösungen wie auch auf den entsprechenden Gelatinenährböden ausgeführt. Die chemische Natur des Pigmentes konnte nicht festgestellt werden. Zikes.

Spieckermann, A. Die Zersetzung der Fette durch höhere Pilze. I. Der Abbau des Glyzerins und die Aufnahme der Fette in die Pilzzelle. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrgs.- u. Genußmittel, **23,** 1912, S. 305—331 m. 3 Taf.

Die unter Verwendung eines Penicillium glaucum eingeleiteten Versuche wurden teils in Lösungen, teils in Kieselgurkulturen, teils auf Fett-Agar

durchgeführt. Das bei der Fettspaltung freiwerdende Glyzerin wird im Entstehen zersetzt, desgleichen verschwand es innerhalb 8 Tagen, wenn es in Mengen von $5\,^0/_0$ einer wässerigen Lösung von $2\,^0/_{00}$ $KH_2PO_4 + 1\,^0/_{00}$ $MgSO_4 + 5\,^0/_{00}$ $NaNO_3$ oder $(NH_4)_2SO_4$ hinzugefügt und diese in flacher Schicht aufbewahrt wurde. Quantitative Bestimmungen ergaben, daß 25—30 $^0/_0$ für plastische Zwecke verbraucht, der Rest aber glatt veratmet wurde. Da die Fettzersetzung in Lösungen zu langsam verläuft, wurden die Fette sorgfältig mit geglühter Kieselgur verrieben und diese mit der Nährlösung angefeuchtet. In solchen Kulturen zeigten die Ammon- und Kalzium- (nicht Kalium- und Natrium-) Seifen der Myristin-, Eruca-, Laurin-, Palmitin- und Ölsäure deutliche Abnahme. Zur Entscheidung der Frage, ob die Fettsäuren in freiem Zustande oder als Salz aufgenommen wurden, dienten Plattenkulturen, die unter Verwendung eines 3-prozentigen den Nährlösungen entsprechenden, vor dem Erstarren mit der zu prüfenden Substanz versetzten Agars hergestellt wurden. Der Durchtritt erfolgt wahrscheinlich meist als Seife, vielleicht auch als freie Säure. Geprüft wurden außer den schon genannten noch die Arachin- und die Stearinsäure, ferner Tributyrin, Triolein, Erdnuß-, Rüb-, Baumwollsaat-, Mandelöl, Butter, Talg u. a. Bei den wasserlöslichen Säuren fand Aufhellung, andernfalls Seifenbildung statt. Besonders klare Bilder ergaben sich, wenn als Stickstoffquelle Ammonsulfat benutzt wurde, was durch die beigegebenen Photogramme z. T. veranschaulicht wird.

Über Abbau und Assimilationswert der Fettsäuren, über Spaltung der Glyzerate und Änderung der Konstanten der wichtigsten Fette soll später berichtet werden. Löhnis.

Trillat, A. et Fouassier. Influence de la nature des gaz dissous dans l'eau sur la vitalité des microbes. Compt. rend. de l'Acad Paris, **154**, 1912, S. 786—788.

In sterilisiertem, destilliertem Wasser wurde das Wachstum der in geringer Menge eingeimpften Keime von B. prodigiosus, coli und typhi dann sehr gefördert, wenn die aus mit B. proteus infizierter Bouillon entweichenden Gase hinzugeleitet wurden. Die Verfasser betonen besonders die Wichtigkeit dieser Beobachtung für Entwicklung und Nachweis von Typhusbakterien im Wasser. In anderen Richtungen dürften diese Befunde jedoch ebenfalls Beachtung und Nachprüfung verdienen. Löhnis.

Kufferath, H. Note sur les tropismes du Bact. Zopfii Kurth. Annal. de l'Instit. Pasteur, t. 25, 1911, S. 601.

Verfasser hat die eigentümliche Wachstumserscheinung des Bact. Zopfii in senkrecht stehenden Gelatinekulturen, in schief nach aufwärts wachsenden Fäden zu wachsen, studiert, welche bisher in der verschiedensten Weise ausgelegt wurde, so von Boyce und Evans als Geotropismus, von Beijerinck als Thermotropismus, von Zikes als Geotaxis, von Jakobsen als Elasticotropismus. Er gelangt auf Grund seiner Versuche zur Ansicht, daß die

genannte Eigentümlichkeit auf Elasticotropismus beruhe und die Wachstumsrichtung der einzelnen Bakterienfäden sehr unter dem Einfluß von Druckspannungen der Gelatine stehe. Zikes.

Mencl, E. Nachträge zu den Kernstrukturen und Kernäquivalenten. Arch. f. Protistenkunde XXI, 1911, S. 255.

Verfasser hat seinerzeit bei Microc. butyricus und gewissen Sarcinen einen Kern nachzuweisen versucht, ist aber vielfach angegriffen worden. Hauptsächlich wurde behauptet, daß die fraglichen Kerne nicht die charakteristischen Farbenreaktionen zeigen, und daß sie sich gegen die Verdauungsenzyme anders verhalten, wie die Kerne anderer Pflanzen. Verfasser sucht beide Bedenken zu entkräften und berichtet in vorliegender Arbeit über neue, an nicht näher benannten Wasser- und Bodenbakterien ausgeführte Kernstudien. Zikes.

Kurono, K. Ein Asparagin spaltendes Enzym der Hefe. Journ. of the College of Agricult. Imp. Univ. Tokyo I, 1911, S. 295.

Verfasser konnte sowohl in Bierhefe wie auch in Sakehefe ein Asparagin spaltendes Enzym auffinden, welches Ammoniak abzuspalten vermag. Dasselbe wirkt nur spezifisch auf Asparagin, nicht aber auf Leucin und andere Aminosäuren. Es läßt sich durch Wasser oder eine schwache Sodalösung der Hefe entziehen. Zikes.

Euler, H. und Ohlsén, H. Über den Einfluß der Temperatur auf die Wirkung der Phosphatese. Bioch. Zeitschr. 37, 1911, S. 313.

Verfasser fanden, daß die Wirkung des synthetisierenden Enzymes, der Phosphatese, durch Temperaturen zwischen 30 und 40° wesentlich unterstützt und gehoben wird. Nach Ansicht der Verfasser wirkt also die höhere Temperatur ähnlich wie ein Aktivator oder ein Coenzym. Zikes.

Dox, Arthur und Golden, Rup. Phytase in niederen Pilzen. Journ. of biolog. Chim. 10, 1911, S. 183.

Verfasser haben eine Reihe von Aspergillusarten auf das Vorkommen von Phytase untersucht und den Aspergillus niger am kräftigsten mit diesem Enzyme ausgestattet gefunden. Sie konstatierten, daß dieses Enzym in allen Fällen, sowohl intra- wie auch extrazellular zur Wirkung kommt. Zikes.

Rubner, M. Über die Beteiligung endozellularer Fermente am Energieverbrauch der Zelle. Sitzungsber. d. königl. preuß. Akad. d. Wissensch., Berlin 1912.

Nach Untersuchungen des Verfassers entwickeln Hefen nur dann Wärme, wenn sie in Zuckerlösungen wachsen. Die entwickelte Wärme entspricht nur dem Wärmeeffekt, welcher sich aus der alkoholischen Gärungsgleichung ergibt. Zikes.

Über die Bildung flüchtiger Säure in zuckerfreien Weinen und Nährlösungen bei Luftzutritt durch reingezüchtete Weinhefen.

Von **Richard Meißner.**

(Arbeiten aus der Kgl. Württemb. Weinbau-Versuchsanstalt in Weinsberg.)

Die nachfolgende Abhandlung wollte ich ursprünglich in einer größeren Arbeit „Über die Morphologie und Physiologie der Kahmhefen und der kahmhautbildenden Saccharomyceten“ [1]), II. Teil, veröffentlichen, deren Versuche zum größten Teile seit dem Jahre 1904 abgeschlossen sind. Da jedoch voraussichtlich noch einige Zeit bis zur Publikation dieser Versuchsergebnisse vergehen wird, weil meine Zeit durch anderweitige Untersuchungen sehr in Anspruch genommen ist, so habe ich mich entschlossen, denjenigen Teil, der „über die Bildung flüchtiger Säure durch reingezüchtete Weinhefen in zuckerfreien Weinen und Nährlösungen bei Luftzutritt“ handelt, als selbständige Arbeit herauszugeben. Ein weiterer Grund, der mich hierzu veranlaßt, ist darin zu suchen, daß über denselben Gegenstand vor kurzer Zeit A. Osterwalder [2]) im Bakt. Centralblatt eine Abhandlung veröffentlicht hat, die zu folgenden Ergebnissen gelangt [3]):

„1. Nach der Gärung der Reinhefe bei Luftzutritt beginnt auf und in dem Bodensatze erneutes Wachstum der Hefe, wobei flockige oder glatte Schichten neuer Hefe auf dem Bodensatz oder neben demselben sich bilden.

2. Unter den gleichen Umständen können im Verlauf von zirka 4—5 Monaten bei Zimmertemperatur in kleineren Gefäßen in Obst- und

[1]) Meißner, Zur Morphologie und Physiologie der Kahmhefen und der kahmhautbildenden Saccharomyceten, I. Teil. Landw. Jahrbücher, XXX, S. 497—582.

[2]) A. Osterwalder, Über die Bildung flüchtiger Säure durch die Hefe nach der Gärung bei Luftzutritt. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 32, Nr. 20/25, 1912, S. 481.

[3]) A. a. O., S. 497 u. 498.

Traubenwein bis ca. 1,8 ‰ flüchtige Säure (als Essigsäure berechnet) gebildet werden.

3. Ein kleinerer Teil der flüchtigen Säure entsteht während der Gärung, der größere nach derselben.

4. Die Bildung der flüchtigen Säure nach der Gärung rührt nicht etwa von einer einfachen Oxydation des Alkohols her, sondern hängt von der Heferasse ab, wobei die Möglichkeit nicht ausgeschlossen bleibt, daß einzelne Heferassen den Alkohol mittels Oxydasen zu flüchtiger Säure zu oxydieren vermögen.

5. Die genannte Erscheinung hängt auch nicht mit der Haut- oder Heferingbildung zusammen.

6. Sehr wahrscheinlich spielt auch der nach der Gärung der Obst- und Traubenweine verbleibende Zuckerrest (sofern es sich überhaupt um solchen und nicht nur um sonstige, die Fehlingsche Lösung reduzierende Substanzen handelt) hierbei keine Rolle.

7. Da die Bildung der flüchtigen Säure nach der Gärung mit der Bildung neuer Hefe auf dem Bodensatz zeitlich zusammenfällt, so müssen wir in diesen nach der Gärung entstandenen neuen Hefebildungen auf dem Bodensatz die Ursache der genannten Erscheinung suchen.

8. Wahrscheinlich wird die flüchtige Säure nach der Gärung als Abbauprodukt beim Stoffwechsel der sich neu bildenden Hefe erzeugt.

9. Ein Abbau von nicht flüchtiger Säure kann hierbei nicht in Betracht kommen."

Überblickt man diese Versuchsergebnisse, so erkennt man, daß Osterwalder zwei neue Tatsachen in der angeführten Arbeit mitteilen will: einmal die Neubildung von Hefe nach Beendigung der alkoholischen Gärung im Hefebodensatz und dann, Hand in Hand damit gehend, die Bildung flüchtiger Säure. Bei der Literatur-Übersicht, in der es heißt[1]): „Bislang war man der Meinung Hansens, wonach die Hefen nach der Gärung ihr Wachstum in der Bodensatzschicht einstellen und nur an der Oberfläche in den Häuten weiterwachsen", werden die Arbeiten Aderholds[2]), Jörgensens[3]) und Klöckers[4]) angeführt, meine diesbezüglichen Mitteilungen[5]) aber, offenbar, weil sie

---

[1]) A. a. O., S. 482.

[2]) Aderhold, Untersuchungen über reine Hefen. Landw. Jahrbücher, Bd. 23, 1894, S. 601.

[3]) Jörgensen, Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie. Berlin 1909, S. 301.

[4]) Klöcker, in Lafar, Handbuch der Techn. Mykologie, Bd. 4, Abschn. 1, Kapitel 1. Allgemeine Morphologie u. Entwickelungsgeschichte, 21. März 1904.

[5]) Meißner, Zweiter Bericht der Kgl. Weinbau-Versuchsanstalt Weinsberg, 1904, S. 69: „Über die Zerstörung und Bildung von Milchsäure durch Organismen".

in einem Jahresbericht veröffentlicht wurden, aus Versehen nicht berücksichtigt. Unabhängig von Osterwalder hatte ich 1904, a. a. O. S. 82, geschrieben: „Bei der mikroskopischen Untersuchung der in stark hungerndem Zustande zum Wein gegebenen Weinhefen zeigte es sich, daß die Hefen sich gut vermehrt hatten: sie lagen, da die Flüssigkeit nicht bewegt war, in großen Sproßverbänden im Präparat." Damit war also bestätigt, was Osterwalder im Jahre 1903[1]) gefunden hatte. In jener 1904er Mitteilung hatte ich aber ferner gesagt[2]): „Weitere Untersuchungen, auf welche ich an dieser Stelle nicht näher eingehen möchte, haben des weiteren gezeigt, daß bei der Zerstörung der Milchsäure in geringerem oder ausgiebigerem Maße flüchtige Säuren gebildet werden." Da auch diese Beobachtung in der Literatur-Übersicht[3]) von Osterwalder nicht erwähnt wird, — es werden nur die Arbeiten Béchamps und Duclauxs, Priors, Reischs, Seiferts, von der Heides, Buchners und Meisenheimers angeführt — so vermute ich, daß der Verfasser von meiner Arbeit keine Kenntnis erhalten hat.

In meiner Abhandlung „Über die Kahmhefen und kahmhautbildenden Saccharomyceten"[4]) war ich zu dem Schluß gekommen, daß aus dem Zucker des Traubensaftes durch die Lebenstätigkeit der Kahmhefen in erster Linie verschiedene flüchtige Säuren gebildet werden, und besonders Buttersäure, was schon durch den Geruch wahrnehmbar ist. Neben den flüchtigen Säuren werden aber auch noch verschiedene nichtflüchtige (fixe) Säuren gebildet, was daraus hervorgeht, daß die flüchtige Säure nicht das Mehr in der gebildeten Gesamtsäure zu decken vermag. Neben der Säurebildung findet auch eine Säureverminderung statt, so daß die Gesamtsäureverminderung des Mostes als die Resultante aus der überwiegenden Säurezerstörung und der geringeren Säurebildung anzusehen ist. Säurebildung und Säurezerstörung sind zwei Prozesse, welche von jeder Kahmhefe zugleich ausgeführt werden. Je nachdem die Säurebildung die Säurezerstörung übertrifft, haben wir im Gesamteffekt eine Säurezunahme des Mostes, im entgegengesetzten Falle eine Säureabnahme. Verlaufen beide Prozesse gleich stark, so resultiert

[1]) Osterwalder, Beiträge zur Morphologie einiger Saccharomyceten-Arten, insbesondere zur Kenntnis unserer Obstweinhefen. Landw. Jahrbücher d. Schweiz, 1903.

[2]) Meißner, a. a. O., S. 75.

[3]) Sie fehlt, nebenbei bemerkt, auch in der Literatur-Übersicht Kroemers in dem Sammelreferat über „Die Bildung flüchtiger Säure durch die Organismen des Weines". Weinbau und Weinhandel, 1912, Nr. 10 u. 11.

[4]) Meißner, a. a. O., S. 579.

schließlich dieselbe Säuremenge, welche der Most vor der Tätigkeit der Kahmhefe besaß.

Bei diesen Untersuchungen habe ich auch feststellen können, daß reingezüchtete Weinhefe in sterilem Traubensaft während der Gärung bedeutende Mengen flüchtiger Säure zu bilden vermag[1]). Sie stieg in dem angeführten Beispiel von 0,22 ‰ im Traubensaft bis auf 1,32 ‰ im vollständig vergorenen Wein, erlitt dann aber wieder eine Abnahme: der Gehalt an flüchtiger Säure des Weines sank von 1,32 ‰ auf 0,84 ‰.

Um in das Wesen der Säurebildung und Säurezerstörung durch Organismen einzudringen, habe ich zwei Wege eingeschlagen, die von dem Wege Osterwalders ganz verschieden sind. Osterwalder impfte je 250 ccm sterilisierten Theilersbirn-, resp. sizil. Traubensaft mit je einer Platinöse voll Reinhefe verschiedener Rassen und untersuchte später die entstandenen Weine, wobei er sein Augenmerk speziell auf Gesamtsäure, flüchtige Säure und bei vereinzelten auch auf Alkohol und Zucker richtete. Bei meinen Versuchen verwendete ich in dem einen Falle künstliche Nährlösungen bestimmter Zusammensetzung, in dem anderen sterilen, vollständig vergorenen Wein bekannter Zusammensetzung.

Versuch I.

Um die Frage zu beantworten, wie sich die verschiedenen Organismen des Weines den einzelnen organischen Säuren gegenüber verhalten, wurde eine künstliche Nährlösung hergestellt, welche folgende Zusammensetzung besaß: 1 Liter destill. Wasser, 5 g phosphorsaures Kalium (K_3PO_4), 3 g schwefels. Magnesia, 1 g prim. phosphors. Kalk, 1 g Pepton.

Diese Nährlösung wurde in 6 Partien geteilt, von denen die erste den Zusatz eines bestimmten Quantums Milchsäure, eine zweite Äpfelsäure, eine dritte Bernsteinsäure, eine vierte Essigsäure, eine fünfte Weinsäure, eine sechste Zitronensäure erhielt. In Gärflaschen mit 650 ccm Inhalt wurden je 400 ccm dieser künstlichen Nährlösungen am 18. November 1903 gegeben. Die Flaschen wurden mit Wattestopfen versehen und dann eine halbe Stunde lang im strömenden Dampf sterilisiert. Die Flüssigkeiten wurden hierauf am gleichen Tage mit Hilfe einer Impfnadel ohne Öse außer anderen Organismen mit folgenden Heferassen geimpft:

---

[1]) Meißner, a. a. O., S. 563.

1.	Weikersheimer Schmecker,	Kultur	4	Tage alt,
2.	„ Karlsberg,	„	4	„ „
3.	Schwaigern,	„	4	„ „
4.	Helfenberg (Schwarz Burgunder),	„	4	„ „
5.	Eilfinger Berg,	„	4	„ „
6.	Hohenhaslach,	„	2	„ „
7.	Mundelsheim,	„	2	„ „
8.	Weinsberg,	„	4	„ „
9.	Verrenberg,	„	4	„ „
10.	Heuholz,	„	2	„ „

Mit Absicht wurde nur mittels einer Impfnadel mit Platindraht geimpft, um einmal möglichst wenig Aussaat zu haben, um andererseits nur verschwindend geringe Mengen von den Nährlösungen, in denen die Hefen vorkultiviert waren (steriler Traubensaft) mit in die künstliche Nährlösung zu bringen.

Die Säuregehalte der einzelnen Serien betrugen:

1.	Flaschen mit	Milchsäure:	12,03 ‰	Die verbrauchte $^n/_{10}$ Kalilauge je auf die betreffenden Säuren umgerechnet.
2.	„ „	Äpfelsäure:	10,72 „	
3.	„ „	Bernsteinsäure:	10,91 „	
4.	„ „	Essigsäure:	10,92 „	
5.	„ „	Weinsäure:	10,87 „	
6.	„ „	Zitronensäure:	10,85 „	

Die Temperatur, bei welcher die Kulturen im Laboratorium standen, wurde auf etwa 22° C gehalten. So blieben die Flaschen vom 18. November 1903 bis zum 28. Mai 1904 an Ort und Stelle stehen, bis zu welcher Zeit sich die Hefen in den einzelnen Kulturen verschieden stark vermehrt hatten. In den Nährflüssigkeiten, die Essigsäure erhalten hatten, war ein Wachstum nicht wahrnehmbar[1]), ein nur geringes in den Nährflüssigkeiten mit Weinsäure. Eine mikroskopische Untersuchung der Kulturen zeigte, daß Infektion nicht eingetreten war. Die Hefezellen hatten zum Teil in den Flüssigkeiten Sporen gebildet, 1—4. Merkwürdig war die Sprossung. Es wurden nämlich viele runde Zellen mit zahlreichen jungen Sprossen gefunden, die denen der Dematiumhefen sehr ähnlich sahen. Die Zellen sind zum Teil im hungernden, zum Teil im sprossenden und gut ernährten Zustande. Die chemischen Untersuchungen der einzelnen Nährflüssigkeiten ergaben am 28. Mai 1904 folgende Resultate:

---

[1]) Vergl. auch Reisch, Zur Entstehung von Essigsäure bei der alkoholischen Gärung. Centralbl. f. Bakt., 1905, II. Abt., Bd. 14, S. 578.

Tabelle I.

Übersicht über die Bildung und Zerstörung von organischen Säuren in künstlichen Nährlösungen durch Weinhefen.

Art der Säure	Ursprünglicher Säuregehalt in ‰	Gesamtsäuregehalt in ‰ am 28. Mai 1904	Flüchtige Säure in ‰ am 28. Mai 1904	Milchsäuregehalt in ‰ am 28. Mai 1904	Abnahme der Gesamtsäure in ‰
1. Rasse Weikersheimer Schmecker[1].					
Milchsäure . .	12,03	10,68	0,36	10,68	1,35
Äpfelsäure . .	10,72	10,11	0,34	0,9	0,63
Bernsteinsäure .	10,91	10,08	0,26	1,3	0,83
Weinsäure . .	10,87	10,42	0,54	0,27	0,35
Zitronensäure .	10,85	10,71	0,10	0,5	0,14
2. Rasse Weikersheimer Karlsberg.					
Milchsäure . .	12,03	11,22	0,59	11,2	0,83
Äpfelsäure . .	10,72	10,65	0,26	1,09	0,07
Bernsteinsäure .	10,91	9,73	0,13	1,35	1,18
Weinsäure . .	10,87	9,82	0,26	0,27	0,95
Zitronensäure .	10,85	10,78	0,12	0,45	0,07
3. Rasse Schwaigern.					
Milchsäure . .	12,03	11,22	0,61	11,22	0,81
Äpfelsäure . .	10,72	10,51	0,65	0,36	0,21
Bernsteinsäure .	10,91	9,67	0,30	0,22	1,24
Weinsäure . .	10,87	10,12	—	—	0,65
Zitronensäure .	10,85	10,71	0,54	—	0,14
4. Rasse Helfenberg.					
Milchsäure . .	12,03	11,13	0,37	11,13	0,90
Äpfelsäure . .	10,72	10,05	0,36	0,67	0,67
Bernsteinsäure .	10,91	10,03	0,50	1,30	0,88
Weinsäure . .	10,87	10,12	0,34	—	0,65
Zitronensäure .	10,85	10,85	0,23	—	0
5. Rasse Eilfinger Berg.					
Milchsäure . .	12,03	11,58	0,24	11,58	0,45
Äpfelsäure . .	10,72	10,58	0,30	1,12	0,14
Bernsteinsäure .	10,91	10,08	0,13	—	0,83
Weinsäure . .	10,87	9,6	0,17	—	1,17
Zitronensäure .	10,85	10,50	0,23	0,9	0,35

[1]) Da in den Essigsäurelösungen ein Wachstum der Hefen nicht zu beobachten war, so wurde von einer chemischen Untersuchung dieser Flüssigkeiten Abstand genommen. Die Gesamtsäuren sind auf die jeweiligen Säuren gerechnet, die flüchtige Säure dagegen auf Essigsäure.

Art der Säure	Ursprünglicher Gesamtsäuregehalt in ‰	Gesamtsäuregehalt in ‰ am 28. Mai 1904	Flüchtige Säure in ‰ am 28. Mai 1904	Milchsäuregehalt in ‰ am 28. Mai 1904	Abnahme der Gesamtsäure in ‰
			6. Rasse Hohenhaslach.		
Milchsäure . .	12,03	10,95	0,67	10,95	1,08
Äpfelsäure . .	10,72	10,31	0,43	0,22	0,41
Bernsteinsäure .	10,91	10,20	0,072	1,08	0,71
Weinsäure . .	10,87	10,27	0,40	—	0,50
Zitronensäure .	10,85	10,50	0,18	0,63	0,35
			7. Rasse Mundelsheim.		
Milchsäure . .	12,03	2,24	0,56	2,24	**9,79**!
Äpfelsäure . .	10,72	9,38	0,67	0,67	1,34
Bernsteinsäure .	10,91	9,73	0,24	1,80	1,18
Weinsäure . .	10,87	9,75	0,48	—	1,02
Zitronensäure .	10,85	10,64	0,48	0,54	0,21
			8. Rasse Weinsberg.		
Milchsäure . .	12,03	5,83	0,22	5,83	**6,20**!
Äpfelsäure . .	10,72	9,51	0,35	—	1,21
Bernsteinsäure .	10,91	9,02	0,53	—	1,89
Weinsäure . .	10,87	10,20	0,22	—	0,57
Zitronensäure .	10,85	10,50	0,18	—	0,35
			9. Rasse Verrenberg.		
Milchsäure . .	12,03	10,32	0,54	10,32	1,71
Äpfelsäure . .	10,72	8,91	0,28	0,36	1,81
Bernsteinsäure .	10,91	9,49	0,12	—	1,42
Weinsäure . .	10,87	10,05	0,08	—	0,72
Zitronensäure .	10,85	10,71	0,32	0,67	0,14
			10. Rasse Heuholz.		
Milchsäure . .	12,03	3,77	0,32	3,77	**8,26**!
Äpfelsäure . .	10,72	10,45	0,23	0,63	0,27
Bernsteinsäure .	10,91	9,67	0,24	1,12	1,24
Weinsäure . .	10,87	9,97	0,37	—	0,80
Zitronensäure .	10,85	10,50	0,44	0,9	0,35

Aus dieser Tabelle I ersehen wir zuerst die Tatsache, daß, obwohl die künstlichen Nährlösungen ursprünglich keine flüchtige Säuren enthielten, doch nach der Vermehrung der verschiedenen Heferassen in ihnen größere oder geringere Mengen flüchtiger Säure entstanden sind. Hierbei können drei Fälle eintreten:

1. Die Gesamtsäure-Abnahme der Nährflüssigkeiten ist gleich 0, obwohl flüchtige Säuren gebildet sind, z. B. Nr. 4, Zitronensäure.

2. Es ist zwar eine Gesamtsäureabnahme der Nährflüssigkeiten zu konstatieren, aber sie ist kleiner als die Bildung der flüchtigen Säuren. (Rasse Nr. 1, Weinsäure; Rasse Nr. 2, Äpfelsäure, Zitronensäure; Rasse Nr. 3, Äpfelsäure, Zitronensäure; Rasse Nr. 5, Äpfelsäure; Rasse Nr. 6, Äpfelsäure; Rasse Nr. 7, Zitronensäure; Rasse Nr. 9, Zitronensäure; Rasse Nr. 10, Zitronensäure.)

3. Die Gesamtsäureabnahme ist größer, z. T. erheblich größer als die Bildung flüchtiger Säuren. (Besonders Rasse Nr. 7, Milchsäure; Rasse Nr. 8, Milchsäure und Rasse Nr. 10, Milchsäure.)

Zweitens erkennen wir aus der Tabelle I, daß die Milchsäure besonders in solchen künstlichen Nährlösungen zerstört wird, die außer Pepton nur noch Milchsäure als Quelle organischer Substanz besitzen. Die einen Rassen zerstören sie sehr stark, so die Rassen Nr. 7, Nr. 8 und Nr. 10, andere weniger stark, so die Rassen Nr. 1, Nr. 6, Nr. 9, wieder andere nur schwach, so Rasse Nr. 5. Neben der Zerstörung der Milchsäure findet auch die Bildung flüchtiger Säuren statt.

Drittens besagt die Tabelle I, daß aus anderen nicht flüchtigen organischen Säuren (Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Weinsäure und Zitronensäure) neben flüchtigen Säuren auch die nichtflüchtige Milchsäure gebildet wird, und zwar in den Versuchen bis 1,8 ‰.

Alle diese Beobachtungen zeigen uns, daß es sich bei dem Säureabbau der nicht flüchtigen Säuren in den künstlichen Nährflüssigkeiten um recht komplizierte Vorgänge handelt. Auf der einen Seite haben wir eine Zerstörung dieser Säuren, die zum Teil wohl veratmet, zum Teil zum Aufbau der neu entstehenden Hefezellen benutzt, zum Teil in flüchtige Säuren als Stoffwechselprodukte der Hefen umgewandelt werden, auf der anderen Seite die Bildung neuer nichtflüchtiger Säuren, wie z. B. der Milchsäure aus Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Weinsäure und Zitronensäure neben der Bildung flüchtiger Säuren. Die durch die Hefen in den Nährflüssigkeiten bewirkte Gesamtsäureabnahme wird deshalb durch die in der Tabelle I angeführten Zahlen durchaus nicht in ihrer tatsächlichen Größe angegeben. Diese Zahlen stellen vielmehr nur die Resultante aus der Säurebildung und Säurezerstörung dar, wie es von mir schon bei der Untersuchung der durch die Kahmhefen bewirkten Säureabnahmen in Traubensaft gefunden worden war (vergl. oben, S. 131). Dabei sei zunächst noch dahingestellt, ob nicht auch die von den Hefen gebildeten flüchtigen Säuren während der Vegetationszeit der Hefen in den künstlichen Nährlösungen zum Teil wieder zerstört wurden. Zwar konnte durch die Versuche

festgestellt werden, daß in den künstlichen Nährlösungen, welchen Essigsäure beigegeben war, eine Vermehrung der Hefen nicht stattgefunden hatte und deshalb die flüchtige Essigsäure auch nicht angegriffen war; aber trotzdem bleibt die Frage offen, ob nicht in dem Falle, in welchem die Zusammensetzung der Nährflüssigkeiten eine zum Teil sehr starke Sprossung der Reinhefen ermöglicht hatte, die flüchtigen Säuren ebenfalls in den Lebensprozeß dieser Organismen hineingezogen werden können. Die Beantwortung dieser Frage ergibt sich aus dem zweiten Versuch.

Da also aus der Tabelle I deutlich hervorgeht, daß bei dem Wachsen der Reinhefen in künstlichen Nährlösungen, welche verschiedene nichtflüchtige Säuren neben Pepton als organische Substanzen enthalten, a) die ursprünglichen, nichtflüchtigen Säuren abgebaut, b) andere nichtflüchtige Säuren und c) auch flüchtige Säuren gebildet werden, so ist die Anschauung Osterwalders (vergl. S. 130, sub 9), daß ein Abbau nichtflüchtiger Säuren bei der Bildung flüchtiger Säuren durch Hefen nicht in Betracht komme, schon hierdurch als nicht haltbar erwiesen worden. Daß übrigens tatsächlich die nichtflüchtigen Säuren, nicht aber etwa das den künstlichen Nährlösungen beigegebene Pepton, das Grundmaterial für die Bildung der flüchtigen Säuren sind, geht aus der Untersuchung der Milchsäure enthaltenden Nährflüssigkeiten ohne weiteres hervor. Denn einmal ist es kaum vorstellbar, wie aus Pepton flüchtige Säuren entstehen sollten; andererseits ist in manchen Fällen der Abbau der Milchsäure ein bedeutend größerer als zur Erzeugung der in den Nährflüssigkeiten entstandenen Hefemengen nötig gewesen ist. Wenn wir trotz des größeren Abbaues der Milchsäure (Rasse 7 = 9,79 ‰, Rasse 10 = 8,26 ‰, Rasse 8 = 6,20 ‰) doch nicht die höchsten Gehalte der betr. Nährflüssigkeiten an flüchtigen Säuren, ja zum Teil verhältnismäßig niedere (Rasse 10 nur 0,32 ‰, Rasse 8 nur 0,22 ‰) Gehalte an diesen Säuren finden, so mag diese Erscheinung ihren Grund darin finden, daß gerade wegen der guten Assimilierbarkeit und Verwertbarkeit der Milchsäure durch die Hefen die Ernährungsverhältnisse für die letzteren günstige waren und deshalb, wie es schon mehrfach von anderer Seite nachgewiesen worden ist[1]), weniger flüchtige Säuren überhaupt gebildet werden. Nicht von der Hand zu weisen ist es außerdem, daß ein Teil der gebildeten flüchtigen Säuren infolge der lebhaft stattgefundenen Lebensprozesse der Hefen von diesen wieder zerstört wurde, ein Vorgang, wie er am besten von den Essigbakterien

[1]) Vergl. Kroemer, Weinbau und Weinhandel, 1912, S. 99.

und auch von den Kahmhefen[1]) bekannt ist. Auffallend, aber nach dem oben Gesagten erklärlich ist endlich die Tatsache, daß trotz des schlechten Wachstums der Reinhefen in Weinsäure-Nährflüssigkeiten, also wohl infolge ungünstiger Ernährungsbedingungen der Hefen, der Gehalt mancher solcher Nährflüssigkeiten an flüchtigen Säuren ein verhältnismäßig hoher ist (Rasse Nr. 1 = 0,54 ‰, Rasse Nr. 4 = 0,34 ‰, Rasse Nr. 6 = 0,40 ‰, Rasse Nr. 7 = 0,48 ‰, Rasse Nr. 10 = 0,37 ‰). Die höchsten Gehalte der künstlichen Nährflüssigkeiten an flüchtigen Säuren wurden mit 0,67 ‰ bei den Rassen Nr. 7, Äpfelsäure und Nr. 6, Milchsäure gefunden; andere Gehalte bewegen sich in deren Nähe, so Rasse 2, Milchsäure mit 0,59 ‰, Rasse 3, Milchsäure mit 0,61 ‰, Rasse 3, Äpfelsäure mit 0,65 ‰, Rasse 3, Zitronensäure mit 0,54 ‰, Rasse 7, Milchsäure mit 0,56 ‰, Rasse 8, Bernsteinsäure mit 0,53 ‰, Rasse 4, Bernsteinsäure mit 0,50 ‰ und Rasse 9, Milchsäure mit 0,54 ‰.

Versuch II.

Um die Frage nach der Bildung flüchtiger Säuren nach der Beendigung der alkoholischen Gärung weiter zu verfolgen, wurden am 29. Juli 1904 die Versuche mit vollständig vergorenen Weinsberger 1903 Rot- (5,3 Gew.-Proz. Alkohol) und Weißweinen (7,3 Gew.-Proz. Alkohol) fortgesetzt. Je 500 ccm davon wurden in Gärflaschen mit einem Inhalt von etwa 650 ccm gefüllt und dann ½ Stunde lang im strömenden Dampf sterilisiert. Nachdem die Weine erkaltet waren, wurden zwei Versuchsreihen gebildet. Die Flaschen der ersten Versuchsreihe, welche Rot- und Weißweine enthielten, wurden je mit 10 ccm eines dicken Hefebreies, der von Reinkulturen aus soeben vollständig vorgorenen, also zuckerfreien Weinen stammte, mit Hilfe steriler Pipetten gegeben, in die Flaschen der zweiten Versuchsreihe je 10 ccm eines Reinhefebreies, dessen Zellen sich, wie die mikroskopische Untersuchung zeigte, in außerordentlich stark hungerndem Lebenszustande befanden. Nachdem die Hefen der unten genannten Rassen den Weinen zugesetzt waren, wurden mit Hilfe steriler Pipetten je 100 ccm von dem Wein aus den einzelnen Flaschen herausgenommen, um den Anfangsgehalt desselben an Milchsäure, Gesamt- und flüchtigen Säuren feststellen zu können. Die Flaschen waren mit Wattestopfen verschlossen, welche durch Überbinden von Filtrierpapier vor Staub geschützt wurden, und standen im Laboratorium bei etwa 22°—25° C.

[1]) Meißner, a. a. O. S. 542 ff., Kahmhefe Nr. 2, 4, 7, 12, 15, 16, 30, 33, 41.

Es konnte demnach die Luft auf den Wein bezw. auf die Reinhefen ungehindert einwirken. So standen die Flaschen bis zum 19. August 1904, zu welcher Zeit deren Inhalte abermals einer chemischen Untersuchung auf ihren Gehalt an Milchsäure, Gesamt- und flüchtigen Säuren unterworfen wurden, ebenso einer genauen mikroskopischen Untersuchung, um festzustellen, daß eine Infektion durch fremde Organismen in der Zeit vom 29. Juli bis 19. August nicht stattgefunden hatte.

Die mikroskopische Untersuchung der Weine ergab in jedem Falle, daß sowohl eine sehr gute Sprossung der jungen, als auch der alten, stark hungernden Reinhefezellen in der kurzen Zeit stattgefunden hatte. Da die Weine in den Flaschen still waren, so hatte sich ein mehr oder weniger voluminöser Hefebodensatz, nicht aber ein Hefering an der Berührungsstelle der Weinoberfläche mit dem Glas, in ihnen gebildet. Die Zellen lagen in großen Sproßverbänden im Präparat, also auch in den Weinen auf dem Boden der Flaschen.

Die Ergebnisse der chemischen Untersuchung sind in den nachfolgenden Tabellen II bis VII übersichtlich zusammengestellt, wobei bemerkt sei, daß die Gesamtsäuren, die Milchsäure und die flüchtigen Säuren als Weinsäure berechnet wurden.

Tabelle II.

Zerstörung der Gesamtsäure in 1903er Weiß- und Rotweinen durch gut ernährte Weinhefen.

Bezeichnung der Weinheferassen	Ursprünglicher Gehalt des Weines an Gesamtsäure am 29. Juli 1904 in ‰ in		Gehalt des Weines an Gesamtsäure am 19. August 1904 in ‰ in		Abnahme der Gesamtsäure in ‰ in	
	Rotwein	Weißwein	Rotwein	Weißwein	Rotwein	Weißwein
1. Weikersheimer Schmecker	6,90	6,15	6,08	5,48	0,82	0,67
2. „ Karlsberg	6,90	6,15	5,4	4,99	1,50	1,16
3. Schwaigern	6,98	—	6,53	5,78	0,45	—
4. Helfenberg	6,83	6,15	6,38	5,93	0,45	0,22
5. Eilfinger Berg	6,83	6,0	5,70	5,25	1,13	0,75
6. Hohenhaslach	6,83	6,38	5,55	5,33	1,28	1,05
7. Mundelsheim	6,23	6,45	4,73	5,03	1,50	1,42
8. Weinsberg	6,83	6,23	4,58	4,88	2,25	1,35
9. Verrenberg	6,98	6,45	6,45	5,78	0,53	0,67
10. Heuholz	6,98	6,38	4,88	4,05	2,10	2,33

Tabelle III.

Zerstörung der Gesamtsäure in 1903er Weiß- und Rotweinen durch stark hungernde Weinhefen.

Bezeichnung der Weinheferassen	Ursprünglicher Gehalt des Weines an Gesamtsäure am 29. Juli 1904 in ‰ in Rotwein	Weißwein	Gehalt des Weines an Gesamtsäure am 19. August 1904 in ‰ in Rotwein	Weißwein	Abnahme der Gesamtsäure in ‰ in Rotwein	Weißwein
1. Weikersheimer Schmecker	6,83	6,08	5,78	5,48	1,05	0,60
2. „ Karlsberg	6,98	6,15	5,55	4,88	1,43	1,27
3. Schwaigern	6,90	6,08	6,15	5,70	0,75	0,38
4. Helfenberg	6,90	6,23	6,45	5,85	0,45	0,38
5. Eilfinger Berg	6,90	6,15	5,48	5,03	1,42	1,12
6. Hohenhaslach	6,98	6,15	5,33	5,63	1,65	0,52
7. Mundelsheim	6,75	6,38	4,65	4,80	2,10	1,58
8. Weinsberg	6,98	6,45	4,58	4,65	2,40	1,80
9. Verrenberg	6,90	6,38	6,38	5,95	0,52	0,45
10. Heuholz	7,05	6,6	4,42	3,75	2,63	2,85

Tabelle IV.

Zerstörung der Milchsäure in 1903er Weiß- und Rotweinen durch gut ernährte Weinhefen.

Bezeichnung der Weinheferassen	Ursprünglicher Gehalt des Weines an Milchsäure am 29. Juli 1904 in ‰ in Rotwein	Weißwein	Gehalt des Weines an Milchsäure am 19. August 1904 in ‰ in Rotwein	Weißwein	Abnahme der Milchsäure in ‰ in Rotwein	Weißwein
1. Weikersheimer Schmecker	2,924	3,073	2,624	2,436	0,300	0,637
2. „ Karlsberg	2,886	2,774	2,062	2,249	0,824	0,525
3. Schwaigern	3,073	—	2,811	1,874	0,262	—
4. Helfenberg	2,886	2,699	2,811	2,137	0,075	0,562
5. Eilfinger Berg	2,957	2,774	2,399	2,474	0,558	0,300
6. Hohenhaslach	2,999	2,961	2,736	2,249	0,263	0,712
7. Mundelsheim	2,699	2,924	1,799	1,762	0,900	1,162
8. Weinsberg	2,811	2,961	1,574	1,687	1,237	1,274
9. Verrenberg	2,811	2,999	2,699	2,436	0,112	0,563
10. Heuholz	2,886	2,924	1,874	1,987	1,012	0,937

Tabelle V.

Zerstörung der Milchsäure in 1903er Weiß- und Rotweinen durch stark hungernde Weinhefen.

Bezeichnung der Weinheferassen	Ursprünglicher Gehalt des Weines an Milchsäure am 29. Juli 1904 in ‰ in Rotwein	Weißwein	Gehalt des Weines an Milchsäure am 19. August 1904 in ‰ in Rotwein	Weißwein	Abnahme der Milchsäure in ‰ in Rotwein	Weißwein
1. Weikersheimer Schmecker	2,999	3,036	2,436	2,512	0,563	0,524
2. „ Karlsberg	3,073	2,886	2,699	1,949	0,374	0,937
3. Schwaigern	2,849	2,736	2,811	2,137	0,038	0,599
4. Helfenberg	2,924	2,961	2,776	2,062	0,148	0,899
5. Eilfinger Berg	2,917	2,924	2,549	2,249	0,368	0,675
6. Hohenhaslach	2,624	2,886	2,249	2,549	0,375	0,337
7. Mundelsheim	2,924	2,699	1,687	1,687	1,237	1,012
8. Weinsberg	2,924	2,811	1,687	1,687	1,237	1,124
9. Verrenberg	2,736	2,999	2,512	2,699	0,224	0,300
10. Heuholz	2,924	3,036	1,874	2,062	1,050	0,974

Tabelle VI.

Bildung und Abnahme der flüchtigen Säuren in 1903er Rot- und Weißweinen durch gut ernährte Weinhefen.

Bezeichnung der Weinheferassen	Ursprünglicher Gehalt des Weines an flüchtigen Säuren am 29. Juli 1904 in ‰ in Rotwein	Weißwein	Gehalt des Weines an flüchtigen Säuren am 19. August 1904 in ‰ in Rotwein	Weißwein	Zu- oder Abnahme der flüchtigen Säuren in ‰ in Rotwein	Weißwein
1. Weikersheimer Schmecker	0,57	0,60	0,77	0,41	+ 0,20	— 0,19
2. „ Karlsberg	0,60	0,57	0,33	0,35	— 0,27	— 0,22
3. Schwaigern	0,53	—	0,75	—	+ 0,22	—
4. Helfenberg	0,54	0,51	0,68	0,68	+ 0,14	+ 0,17
5. Eilfinger Berg	0,50	0,47	0,24	0,39	— 0,26	— 0,08
6. Hohenhaslach	0,53	0,56	0,38	0,30	— 0,15	— 0,26
7. Mundelsheim	0,47	0,53	0,36	0,33	— 0,11	— 0,20
8. Weinsberg	0,56	0,50	0,27	0,36	— 0,29	— 0,14
9. Verrenberg	0,60	0,54	0,66	0,68	+ 0,06	+ 0,14
10. Heuholz	0,57	0,51	0,23	0,68	— 0,34	+ 0,17

Tabelle VII.

Bildung und Abnahme der flüchtigen Säuren in 1903er Rot- und Weißweinen durch stark hungernde Weinhefen.

Bezeichnung der Weinheferassen	Ursprünglicher Gehalt des Weines an flüchtigen Säuren am 29. Juli 1904 in ‰ in		Gehalt des Weines an flüchtigen Säuren am 19. August 1904 in ‰ in		Zu- oder Abnahme der flüchtigen Säuren in ‰ in	
	Rotwein	Weißwein	Rotwein	Weißwein	Rotwein	Weißwein
1. Weikersheimer Schmecker	0,57	0,48	0,45	1,01	— 0,12	+ 0,53
2. „ Karlsberg	0,60	0,54	0,24	0,50	— 0,36	— 0,04
3. Schwaigern	0,53	0,47	0,41	0,75	— 0,12	+ 0,28
4. Helfenberg	0,54	0,50	0,69	0,87	+ 0,15	+ 0,38
5. Eilfinger Berg	0,51	0,56	0,24	0,50	— 0,27	— 0,06
6. Hohenhaslach	0,56	0,53	0,65	0,24	+ 0,09	— 0,29
7. Mundelsheim	0,63	0,53	0,23	0,48	— 0,40	— 0,05
8. Weinsberg	0,59	0,56	0,47	0,42	— 0,12	— 0,14
9. Verrenberg	0,56	0,51	0,51	0,68	— 0,05	+ 0,17
10. Heuholz	0,57	0,53	0,24	0,60	— 0,33	+ 0,07

Hand in Hand mit der Vermehrung der Reinhefen in den vollständig vergorenen Weinen hat eine Abnahme der Gesamtsäure stattgefunden (Tabelle II und III). Es ist auffallend, daß, obwohl die Kulturen nur vom 29. Juli bis zum 19. August 1904, allerdings bei höherer Temperatur, gestanden waren, diese Abnahme doch eine verhältnismäßig hohe in manchen Weinen gewesen ist. Besonders zeichnen sich die Rassen Weinsberg, Heuholz und Mundelsheim aus. Die Rassen: Weikersheimer Schmecker Nr. 1, Schwaigern Nr. 3, Helfenberg Nr. 4 und Verrenberg Nr. 9 haben sowohl im gut ernährten, als auch im stark hungernden Zustande nur eine verhältnismäßig geringe Abnahme der Gesamtsäuren bewirkt. Weiter ist bemerkbar, daß die stark hungernden Hefen im allgemeinen die Gesamtsäure stärker angegriffen haben als die Reinhefen im gut ernährten Zustande. So hat z. B. die Rasse Weinsberg Nr. 8 im stark hungernden Zustande die Gesamtsäure im Rotwein um 2,40, im Weißwein um 1,80 ‰, dieselbe Rasse, wenn sie im gut ernährten Zustande denselben Weinen zugeführt wurde, im Rotwein um 2,25, im Weißwein um 1,35 ‰ vermindert. Ähnlich verhält sich die Rasse Heuholz Nr. 10: im stark hungernden Zustande zu dem Wein hinzugesetzt, hat sie die Gesamtsäure des Rotweines um 2,63,

die des Weißweines um 2,85 ‰ herabgesetzt, im gut ernährten Zustande dagegen die Gesamtsäure des Rotweines um 2,10, die des Weißweines um 2,33 ‰. Auch die Rasse Mundelsheim Nr. 7 hat im stark hungernden Zustande mehr Gesamtsäure als dieselbe Rasse in gut ernährtem Zustande verbraucht, nämlich im ersten Falle im Rotwein 2,10, im Weißwein 1,58 ‰, im zweiten Falle im Rotwein 1,50, im Weißwein 1,42 ‰.

Die Gesamtsäureabnahmen werden durch die Tabellen IV bis VII erklärlich. Wie schon im Versuch I (vergl. S. 134), so zeichnen sich die Rassen Mundelsheim Nr. 7, Weinsberg Nr. 8, Heuholz Nr. 10 dadurch aus, daß sie die Milchsäure auch im Versuch II kräftig zerstören (Milchsäureabnahmen von 0,9, 1,237, 1,012 ‰ in Tabelle IV und 1,237, 1,237 und 1,050 ‰ in Tabelle V). Deshalb finden wir auch in denjenigen Weinen, welche mit diesen drei Rassen, sei es mit gut ernährten Zellen, sei es mit solchen in stark hungerndem Zustand, versetzt wurden, große Gesamtsäureabnahmen. Bei anderen Rassen (Schwaigern Nr. 3, Helfenberg Nr. 4, Verrenberg Nr. 9) ist die Abnahme der Milchsäure gering, und dementsprechend auch die Abnahme der Gesamtsäuren. Aber diese Abnahmen sind durch die Milchsäureabnahmen allein nicht verständlich; wir müssen noch in Betracht ziehen, daß durch die Hefen eine gewisse Menge flüchtiger Säuren in den vollständig vergorenen, zuckerfreien Weinen gebildet werden.

Betrachten wir in dieser Hinsicht die Tabellen VI und VII, so sehen wir auf den ersten Blick, daß nur in einem Teile der Weine eine Zunahme an flüchtigen Säuren, durch die Hefe veranlaßt, eingetreten ist, während andere Weine in der kurzen Versuchsdauer von etwa drei Wochen einen verhältnismäßig großen Verlust an flüchtigen Säuren aufweisen. Die Neubildung der flüchtigen Säuren beträgt bis zu 0,53 ‰, die Abnahme dieser Säuren bis zu 0,40 ‰, d. i. in dem einen Falle bis 110 % Zunahme, in dem anderen bis 63,5 % Abnahme.

Durch den Versuch II muß also die in Versuch I offen gelassene Frage dahin beantwortet werden, daß die Hefen unter den gegebenen Versuchsbedingungen, d. h. wenn sie in großer Menge in einem vollständig vergorenen Weine leben, die vorhandenen flüchtigen Säuren wohl angreifen. Der Versuch II bestätigt außerdem das, was bereits in Versuch I gefunden war, daß nämlich die nichtflüchtige Milchsäure in diesem Falle abgebaut wird. Aber der Versuch II lehrt noch etwas anderes. Er zeigt uns, und als Beispiel wollen wir den Weißwein mit der Heferasse Helfenberg Nr. 4 in Tabelle V wählen, daß wir, obwohl wir eine verhältnismäßig große Zerstörung der Milchsäure und eine

verhältnismäßig große Bildung von flüchtigen Säuren haben, doch nicht mit diesen beiden Daten zu der geringen Gesamtsäureabnahme des Weines gelangen. Denn wir können folgende Berechnung anstellen:

Gesamtsäuregehalt des ursprünglichen Weines .	6,23 ‰
Abnahme des Milchsäuregehaltes	0,899 „
Rest des Gesamtsäuregehaltes	5,331 ‰
Bildung an flüchtigen Säuren	0,38 „
Es müßte sich also ein Gesamtsäuregehalt von nur	5,711 ‰

ergeben, während wir tatsächlich einen solchen von 5,85 ‰ gefunden haben. Wir müssen demnach notwendigerweise annehmen, daß außer *der Bildung der flüchtigen Säuren und der Zerstörung der Milchsäure andere nichtflüchtige Säuren bei dem Wachsen der Reinhefen in den zuckerfreien Weinen gebildet worden sein müssen, in dem angeführten Beispiele* 0,139 ‰.

Interessant ist ferner der Weißwein mit den Rassen Weikersheimer Schmecker Nr. 1. Bei ihm ist die Bildung der flüchtigen Säuren (0,53 ‰) fast gleich der Zerstörung der Milchsäure (0,524 ‰) und doch haben wir eine Abnahme der Gesamtsäure von 0,60 ‰. Das sagt deutlich, daß außer der nichtflüchtigen Milchsäure auch andere nichtflüchtige Säuren des Weines *eine Abnahme* erfahren haben müssen, denn sonst müßte die Abnahme der Gesamtsäuren in diesem Falle gleich Null sein, ja sogar um ein geringes zugenommen haben. Dieser Schluß macht es erklärlich, warum z. B. in dem Weißwein mit der Heferasse Heuholz Nr. 10 in Tabelle V trotz der starken Milchsäureabnahme und der sehr geringen Bildung der flüchtigen Säuren dennoch eine sehr große Gesamtsäureabnahme eingetreten ist. Nach Abzug der 0,07 ‰ flüchtiger Säuren von 0,974 ‰ Milchsäure verbliebe eine Säureabnahme von 0,967 ‰. Tatsächlich beträgt sie nach Tabelle III aber 2,85 ‰. Die Differenz von 1,883 ‰ Säureabnahme läßt sich nur dann verstehen, wenn man neben der Abnahme der Milchsäure den Abbau anderer *nichtflüchtiger* Säuren annimmt. Diese Annahme ist aber durch den Versuch I vollkommen begründet.

Endlich sei an dieser Stelle auch hervorgehoben, daß in alkoholischen Nährflüssigkeiten aus dem *Alkohol* nach den Angaben P. *Lindners*[1]) Säure gebildet werden kann. Leider sind die Versuchsweine auf die Verminderung des Alkoholgehaltes nicht untersucht worden.

[1]) P. *Lindner*, Der Alkohol ein mehr oder weniger ausgezeichneter Nährstoff für verschiedene Pilze. Sonderabdruck aus „Wochenschrift für Brauerei" 1912, Nr. 1, S. 5.

Wir sehen also, daß auch dann, wenn die Reinhefen in zuckerfreien Weinen leben, der Vorgang der Gesamtsäureabnahme, der durch die Hefen bewirkt wird, ein recht komplizierter ist, weil gleichzeitig und nebeneinander die Bildung und Zerstörung flüchtiger und nichtflüchtiger Säuren stattfinden, aus deren Verlauf sich dann als Resultierende erst der schließliche Gesamtsäuregehalt der Weine ergibt. Die chemische Veränderung der Weine, namentlich aber die Bildung der flüchtigen Säuren wäre sicher eine noch größere geworden, wie sie auch Osterwalder festgestellt hat, wenn die Versuchsdauer eine größere gewesen wäre. Immerhin lassen sich aus den beiden angeführten Versuchen, wie wir gesehen haben, die sich in den Weinen abspielenden, von den Reinhefen bewirkten Prozesse deutlich erkennen.

Zum Schluß wollen wir die sich ergebenden Hauptresultate der beiden Versuche übersichtlich zusammenstellen:

1. Sowohl in zucker- und alkoholfreien künstlichen Nährlösungen, welche als Quelle organischer Substanz Pepton und Milchsäure, Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Weinsäure oder Zitronensäure enthalten, als auch in zuckerfreien Rot- und Weißweinen können sich bei Luftzutritt reingezüchtete Weinhefen durch Sprossung und Sporenbildung vermehren.

2. Infolge des Wachstums der Hefezellen wird die Milchsäure unter gleichzeitiger Bildung flüchtiger Säuren in größerem oder geringerem Maße abgebaut. An der Bildung der flüchtigen Säuren sind demnach die nichtflüchtigen Säuren beteiligt.

3. Dies geht des weiteren auch daraus hervor, daß aus Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Weinsäure und Zitronensäure nicht nur Milchsäure, sondern auch flüchtige Säuren gebildet werden, wodurch eine Abnahme der vier genannten organischen Säuren in den Kulturflüssigkeiten eintritt.

4. Außer der Bildung der flüchtigen Säuren und der Milchsäure müssen durch die Tätigkeit der Hefen in den Nährflüssigkeiten auch noch andere, nichtflüchtige Säuren gebildet werden, da sonst trotz des großen Milchsäureabbaues und der Bildung von flüchtigen Säuren die geringe Abnahme des Gesamtsäuregehaltes der Kulturflüssigkeiten nicht zu erklären ist.

5. In Weinen beteiligt sich an der Säurebildung nach P. Lindners Untersuchungen offenbar auch der Alkohol.

6. Nicht nur die gebildeten nichtflüchtigen, sondern auch die flüchtigen Säuren werden durch die Reinhefen abgebaut.

7. Der nach dem Wachsen und der Tätigkeit der Weinhefen in den Nährflüssigkeiten verbleibende Gesamtsäuregehalt stellt also die Resultierende aus der Bildung und Zerstörung nichtflüchtiger und flüchtiger Säuren dar. Je nachdem diese Säuren gebildet oder zerstört werden, ist die Gesamtabnahme der Gesamtsäuren eine geringere oder größere oder gleich Null.

8. Da die Säurebildung und Säurezerstörung Hand in Hand mit dem Wachstum der in den Kulturflüssigkeiten befindlichen Weinhefen geht, so ist anzunehmen, daß die entstehenden flüchtigen und nichtflüchtigen Säuren Stoffwechselprodukte der Weinhefen sind. Letztere benutzen außerdem die Säuren wahrscheinlich einmal zur Unterhaltung ihrer Atmungsprozesse, verwenden sie aber auch zum Aufbau neuer Zellen bei ihrem Wachstum.

Über einen fadenziehenden Milchsäurebazillus (Bacillus casei filans).[1]

Von **Prof. Dr. Costantino Gorini,**

Direktor des bakteriologischen Instituts der K. landwirtschaftlichen Hochschule zu Mailand.

Je mehr ich in die Kenntnis von den Milchsäurebakterien eindringe, um so mehr überzeuge ich mich, daß sie mehr nach ihren physiologischen als nach ihren morphologischen Eigenschaften voneinander verschieden sind. Es ist ein schwerer Irrtum, zu glauben, wie solches bei einigen Autoren der Fall ist, daß die erstgenannten Eigenschaften in einer gewissen Weise mit den zweiten verknüpft sind; so liest man z. B. hier und dort, daß die kokkenförmigen Milchsäurebakterien andere Temperaturen lieben, andere Säuregrade hervorbringen usw. als die bazillenförmigen Milchsäurebakterien; dies ist durchaus ungenau, denn ich habe Milchsäurekokken angetroffen, die in höherem Grade thermophil und stärker säurebildend waren als Milchsäurebazillen und umgekehrt. Man muß daher zur Identifizierung einer Milchsäurebakterie sich nicht damit begnügen, die Form derselben anzugeben, indem man hierbei annimmt, daß sich diese Bakterie in ihren Funktionen ebenso verhalte wie die morphologisch ähnlichen Milchsäurebakterien; vielmehr muß man dieselbe auch nach ihren physiologischen und chemischen Wirkungen untersuchen.

Allerdings verhält es sich so, daß, während hinsichtlich der Form unsere Kenntnis für vollständig gelten kann, wenn die Milchsäurebakterien in zwei oder höchstens in drei Gruppen (Kokken, Kurzstäbchen und Langstäbchen) gebracht sind, wir uns hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Milch kaum im Anfangsstadium der Möglichkeit, sie zu unterscheiden, befinden.

Ich habe schon vor einiger Zeit einen ersten Versuch einer solchen Untersuchung mitgeteilt, in dem ich zeigte, daß sich aus den genannten Bakterien zwei physiologische Gruppen bilden lassen: eine erste Gruppe,

---

[1]) Diese Arbeit wurde der Reale Accademia dei Lincei am 19. Sept. 1912 vorgelegt.

aus Bakterien bestehend, die nur eine säurebildende Wirkung auf die Milch bekunden, weswegen sie als einfache Fermente der Laktose zu betrachten sind: eine zweite Gruppe, aus Bakterien gebildet (auf die ich im Jahre 1892 aufmerksam gemacht habe)[1]), welche außer ihrem säurebildenden Vermögen auch noch ein proteolytisches Vermögen besitzen, weswegen sie als gemeinsame Fermente der Laktose und des Kaseins anzusehen sind. Dies ist eine Unterscheidung, die ganz und gar von der Form unabhängig ist, da sowohl einfach säurebildende Bakterien als auch acido-proteolytische Bakterien sich ebenso sehr unter den Milchsäurekokken wie auch unter den Milchsäurebazillen vorfinden.

Später habe ich mitgeteilt, daß an proteolytischen Milchsäurebakterien zwei Typen vorhanden sind: einer, der sein proteolytisches Vermögen auch bei den in Gelatine angelegten Kulturen bekundet, und ein anderer, der es nicht bekundet[2]).

Heute möchte ich zu dieser Frage einen weiteren Beitrag vorbringen, der die Aufmerksamkeit auf einen Typus einer Milchsäurebakterie lenkt, die ich aus Granakäse isoliert habe und die die Eigenschaft besitzt, die Milch fadenziehend zu machen.

Die Fähigkeit, der Milch eine viskose, schleimige, fadenziehende Konsistenz zu erteilen, ist schon von verschiedenen Autoren (Leichmann, Weigmann, Burri, Hohl und Steinegger und andern), bei den Milchsäurebakterien, aber niemals als eine konstante und wesentliche Eigenschaft derselben wahrgenommen worden. So ist diese bald als eine Erscheinung, die von einer Degeneration und Schwächung der Bakterien herrührt, bald als eine Erscheinung betrachtet worden, die sich nur in den Kulturen in roher Milch und nicht in den Kulturen in sterilisierter Milch kund gibt, bald als eine gelegentliche Erscheinung, die in den aufeinanderfolgenden Kulturen verschwindet, bald als eine Erscheinung, die an die Symbiose der Milchsäurebakterien mit andern Mikroben (Blastomyzeten) geknüpft ist. Nichts von alledem habe ich indessen bei der in Rede stehenden Bakterie bemerkt; schon seit zehn Jahren halte ich sie in meiner Sammlung mittels Umpflanzungen, die alle acht oder vierzehn Tage vorgenommen werden, und kann behaupten, daß das Vermögen des Fadenziehens von dem Tage ihrer Isolierung aus dem Käse bis zu dem heutigen Tage erhalten geblieben ist, auch in

[1]) Atti dei Laboratorii di Sanità Pubblica al Ministero Interni, Roma, 1892; Rivista d'Igiene e Sanità pubblica, 1893, pagina 549; Giornale della R. Società Italiana d'Igiene, 1894, No. 4; Rend. R. Istit. Lomb. di Scienze e Lettere, 1901, 1904, 1908; Atti della Società Medico-Biologica Milanese, 1910, fasc. 1.

[2]) Rend. R. Acc. Lincei, XIX, 2° sem. 1910, pag. 150; Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. 1, 1912, S. 49.

Reinkultur und in sterilisierter Milch (im Autoklav bei 120° C. während 20 Minuten) und zwar ohne daß sie irgend ein Anzeichen einer morphologischen Degeneration oder einer physiologischen Abschwächung gezeigt hat. Ich habe vielmehr bei dem fadenziehenden Vermögen dieser Bakterie noch eine wichtige charakteristische Besonderheit gefunden, die nämlich darin besteht, daß das Fadenziehen der Milch nur bis zum Anfang der Koagulation andauert und mit dem Fortschreiten der Koagulation und dem gleichzeitigen Sauerwerden der Milch allmählich abnimmt und sodann verschwindet. Mit andern Worten, bei dieser Bakterie ist die fadenziehende Eigenschaft, wenngleich sie konstant ist, nicht eine immerwährende, sondern eine vorübergehende; sie zeigt sich nur in den ersten Perioden ihrer Entwicklung. Ich will mich jetzt nicht damit aufhalten, zu erörtern, ob und wieweit eine nicht eingetroffene Feststellung dieser vorübergehenden Dauer des Fadenziehens der Milch bei einer und derselben Kultur jene Unbeständigkeit oder jenes Verschwinden erklären kann, welche beiden Momente von verschiedenen Autoren als unregelmäßige Erscheinungen bei der fadenziehenden Fähigkeit ihrer Milchsäurebakterien beobachtet worden sind.

Es folgen nun die hauptsächlichsten morphologischen und physiologischen Eigentümlichkeiten der in Rede stehenden Bakterie.

Ihre optimalen Entwicklungsbedingungen finden sich in den Kulturen in Milch bei 42—45° C.; unterhalb 30° C. entwickelt sie sich langsam. Bazillen mit abgerundeten Enden, von einer mittlern Breite von 0,8 Mikromillimeter und einer mittlern Länge von 7—9 Mikromillimeter, oft Diplobazillen; zuweilen lange Fäden. Sie färben sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben und auch nach der Methode von Gram; sie zeigen oft Endogranulationen; sie sind unbeweglich, nicht sporenbildend, fakultative Anaerobe.

Zur Isolierung dieses Bazillus dienen sehr gut die in tiefe Schichten von Agar, welcher zu 2 % mit Laktose versetzt ist, eingesäten Kulturen, welche bei 40—42° C. gehalten werden; er entwickelt sich darin in 24 bis 48 Stunden, vorzugsweise in den unteren Zonen des Kulturbodens, wobei er diesen trübt und gelbliche, abgerundete Kolonien mit einem Durchmesser von 2—3 mm bildet; einige Kolonien haben einen glatten Rand und gleichen kleinen Scheiben oder kleinen Linsen, andere haben unregelmäßige Konturen und gleichen Flöckchen oder Wolltüpfchen; diese letztern sind die am meisten charakteristischen Kolonien. Allerdings finden sich solche auch bei andern Spezies von Milchsäurebakterien, besonders denjenigen von Bazillenform, häufig vor. Die fadenziehende Eigenschaft der Kolonien kann zu ihrer Aufsuchung sehr dienlich sein;

ich muß jedoch bemerken, daß sie nicht bei allen Kolonien deutlich hervortritt.

Besonders beachtenswert ist das Verhalten des Bazillus in den in Milch angelegten Kulturen. Bei 42—45° C. beginnt die Milch nach sechs bis sieben Stunden schwach Fäden zu ziehen; nach neun bis zehn Stunden koaguliert sie und erreicht eine Säure gleich 18—22 Soxhletgraden (18—22 Kubikzentimeter viertelnormaler Natronlauge pro 50 Kubikzentimeter Milchkultur). Anfangs ist das Koagulum weich und fadenziehend, hernach wird es fest und verliert die Viskosität; keine Gasentwicklung.

Ich möchte besonders hervorheben, daß die Gärwirkung dieser Bakterie auf die Milch so stark ist, daß sie ihr eine bevorzugte Stellung unter den gewöhnlichen Milchsäurebakterien anweist, welche bekanntlich 15 bis 24 Stunden brauchen, um die Milch unter optimalen Bedingungen zum Koagulieren zu bringen; ich bemerke außerdem, daß eine so energische Wirkung sicherlich nicht gestattet, die fadenziehende Eigenschaft dieser Bakterie als ein Anzeichen einer physiologischen Degeneration anzusehen, wie einige Autoren im Hinblick auf andere Milchsäurebakterien behaupten möchten.

Auf Grund aller oben dargelegten Erwägungen bin ich der Ansicht, daß dieser Milchsäurebazillus wegen seiner besonderen charakteristischen Merkmale (starke Virulenz, vereinigt mit vorübergehender, aber konstanter fadenziehender Eigenschaft gegenüber Milch) von den ihm gleichartigen unterschieden werden muß, und in Anbetracht des Ortes seines Vorkommens halte ich es für geeignet, denselben mit dem Namen Bacillus casei filans zu bezeichnen.

Ein neuer Endomyces (Endomyces Lindneri).

Von **K. Saito.**

[Aus der zentralen Untersuchungsanstalt der Südmandschurischen Eisenbahngesellschaft, Dairen (Dalny), Mandschurei; Abteilung für Gärungsgewerbe.]

(Mit 5 Figuren.)

Bei der mykologischen Untersuchung einer „chinesischen Hefe," die zur Bereitung des chinesischen Hirsebiers „Hoang-chiu" gebraucht wird, fand ich neben Aspergillus Oryzae, Mucor corymbifer und einer Alkoholhefe noch einen Endomyces, welcher nach seinen Eigenschaften als nova species gilt. Ich schlage für diesen Pilz den Namen Endomyces Linderi vor.

Im ersten Stadium der Entwicklung auf festen Nährböden bildet dieser Pilz Lufthyphen, an denen die Konidien abgeschnürt werden. Die Strichkultur auf Würzegelatine bildet einen dicken kreideweißen Belag. Die Gelatine fängt schon binnen wenigen Tagen zu verflüssigen an. Auf Würzeagar entstehen dagegen viel weniger Lufthyphen. Der Belag nimmt eine schokoladenähnliche Farbe an, wenn die Endosporen darin massenhaft gebildet werden. Das vegetative Wachstum auf gewöhnlichem Bouillonpeptonagar ist sehr schlecht, doch tritt hierbei in der Pilzdecke bald eine reichliche Sporenbildung auf. In Bierwürze ausgesät, bildet der Pilz eine dicke Decke, die das Aussehen durchtränkter Watte zeigt, und außerdem lockere Aussprossungszellen.

Die Myzelien sind septiert und verzweigt. In alten Kulturen befinden sich auch inhaltsleere Myzelfäden. Die Konidien, welche wie bei Monilia, Sachsia usw. an den Lufthyphen abgeschnürt werden, sind von runder bis ovaler Gestalt (Fig. 1). Eine massenhafte hefeartige Sprossung der Myzelien findet man besonders in Adhäsionskulturen, wobei die ganze dünne Schicht der Bierwürze schließlich mit Sproßzellen gefüllt erscheint (Fig. 2). Die Konidien keimen leicht zu Myzelien aus, die sich hie und da verzweigen.

Die Asken bilden sich wie bei Endomyces fibuliger entweder am Ende schnallenförmig kopulierter Äste oder an beliebigen Stellen des septierten Fadens (Fig. 3, 4). Sie sind kugelig oder etwas verlängert. Nach ihrer Größe kann man sie leicht von den Konidien unterscheiden. In den Asken befinden sich gewöhnlich 2—4 hutförmige Endosporen.

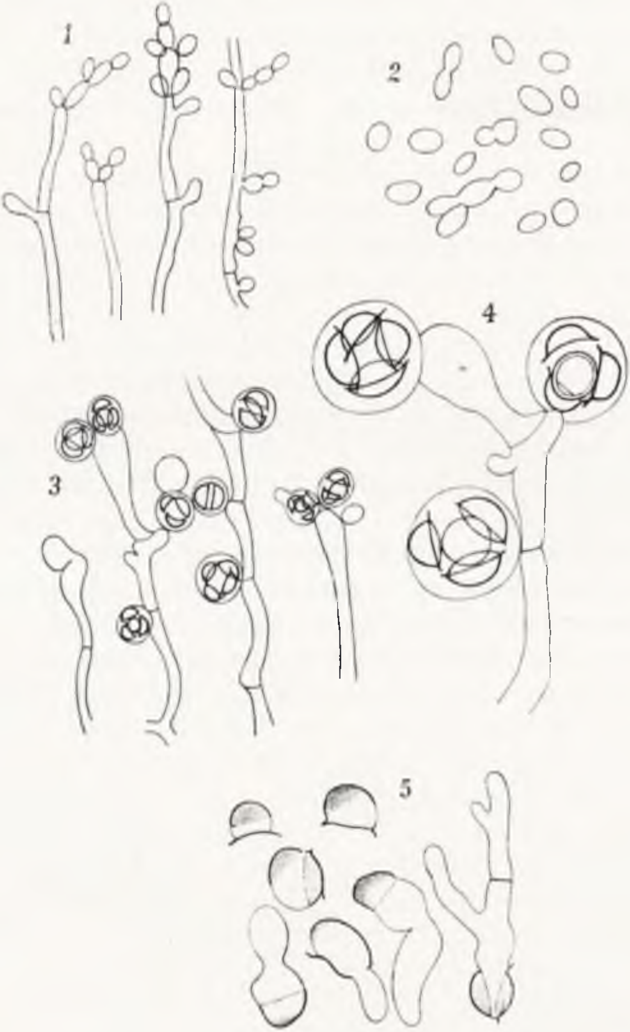


Fig. 1. Konidienbildung an Myzelfäden. Aus einer Agarkultur. — Fig. 2. Hefeartige Sprossung aus einer Adhäsionskultur in ungehopfter Würze. — Fig. 3. Askosporenbildung, Schnallenbildung. Aus einer alten Agarkultur. — Fig. 4. Wie Figur 3, vergrößert. — Fig. 5. Keimende Askosporen. — Vergrößerung von Fig. 1—3 = Ocul. 4, Obj. DD Zeiss; Fig. 4—5 = Ocul 4, Obj. Homog. Imm. $^{1}/_{12}$ Zeiss.

Auf Gipsblockkulturen bildet sich eine große Anzahl Sporen bei Zimmertemperatur schon nach 2 Tagen. Ebenso tritt auch in Gelatine- und Agarkulturen eine reichliche Sporenbildung auf. Der Askendurchmesser ist 9—12 μ, jede Askospore ist 3,6—7 μ (ohne Krempe gemessen) groß.

Die Sporen zeigen wie Saccharomycopsis capsularis große Widerstandsfähigkeit gegen Schwefelsäure, die sie rötlich färbt. Nach einer gewöhnlich vorangegangenen Anschwellung bricht das Exosporium der Sporen auf, worauf sie sogleich wieder zum Promyzel aussprossen, indem sich die Ringleiste noch lange an einer Seite erkennen läßt (Fig. 5).

Die Sporenbildung tritt bei 25° C. sehr reichlich auf, bei 37° C. aber kommen nur konidienbildende Myzelien vor.

Der Pilz vergor in 15 Tagen eine ungehopfte Bierwürze von 12 auf 4,5 B. Die gegorene Flüssigkeit riecht nach frischen Äpfeln und schmeckt etwas bitter. Oxalsäurebildung wurde in der gegorenen Flüssigkeit nachgewiesen. Von den gerade zur Verfügung stehenden Kohlehydraten wurden Glukose, Fruktose, Maltose, Saccharose, Mannose, Dextrin stark und Raffinose, Xylose, α-Methylglykosid schwach vergoren, während Galaktose, Inulin, Laktose, Rhamnose, Sorbose und Arabinose keine Spur von Gärung zeigten.

Diese Pilzart steht in nächster Verwandtschaft zu Endomyces fibuliger. Die beiden Arten können aber durch ihr Verhalten gegen die verschiedenen Kohlehydrate voneinander unterschieden werden, denn E. Lindneri vergärt Maltose und Dextrin, die von E. fibuliger nicht vergoren werden.

Über das Verhalten einiger Schimmelpilze zu Kalkstickstoff.

2. Mitteilung.

Von **Alexander Kossowicz.**

In den früher mitgeteilten Versuchen[1]) kam unsterilisierter Kalkstickstoff zur Anwendung. Um ein Aufkommen von Bakterien in den mit Schimmelpilzen beimpften Nährlösungen zu verhindern, hatten die Nährlösungen einen ziemlich beträchtlichen Weinsäurezusatz (5 g Weinsäure pro 1000 ccm der Nährlösung) erhalten. Von zehn untersuchten Schimmelpilzen waren nur drei, nämlich Phytophthora infestans, Botrytis Bassiana und Mucor γ Boidin zur Entwicklung gelangt. Auch eine Giftwirkung von Kalkstickstoff auf Schimmelpilze, die in ammoniumchloridhaltigen mineralischen Zuckerlösungen wuchsen, konnte damals nachgewiesen werden.

Gelegentlich der Besprechung der Literatur über das Verhalten von Mikroorganismen zu Kalkstickstoff, einer Frage, die auch für die Beurteilung der Düngewirkung des Kalkstickstoffs von Bedeutung und daher auch für die landwirtschaftliche Praxis von Interesse ist, im 1. Teil meiner Agrikulturmykologie“, habe ich auf Seite 44 darauf hingewiesen, daß manche widersprechenden Befunde über die Zersetzung von Kalkstickstoff durch Mikroorganismen auf die verschiedene Zusammensetzung des käuflichen Kalkstickstoffs zurückzuführen sein dürften.

Es heißt dort: „Der Gehalt der Kalkstickstoffverbindungen an Cyanamid ist ein sehr wechselnder und vielfach kein allzu hoher, so daß die verunreinigenden Nebenbestandteile bei Lösung der Frage nach der Zersetzlichkeit des Kalkstickstoffs durch Mikroorganismen, eine viel größere Beachtung verdienen, als dies bisher geschehen ist. Die sehr wechselnde Zusammensetzung der verwendeten Präparate macht wohl auch die starke Abweichung in den Befunden verschiedener Forscher erklärlich“ [2]). Auf die Bedeutung der verunreinigenden Nebenbestand-

---

[1]) Al. Kossowicz. Zeitschrift für Gärungsphysiologie, Bd. 1, 1912, S. 124.

[2]) Al. Kossowicz, Einführung in die Agrikulturmykologie, 1. Teil, Berlin 1912.

teile für die Düngewirkung des Kalkstickstoffs hat schon Löhnis[1]) früher unter Angabe weiterer Literatur aufmerksam gemacht.

Es lag mir nun daran, zu prüfen, wie sich tatsächlich Schimmelpilze zu Kalkstickstofflösungen verschiedener Herkunft verhalten und zwar zu sterilisiertem Kalkstickstoff.

Für die Sterilisierung der durch Hitze leicht zersetzlichen Kalkstickstoffnährlösungen wurden die Filtration mit Hilfe von Berkefeldfiltern und die trockene Sterilisierung des Kalkstickstoffs durch Hitze in Anwendung gebracht.

Zur Untersuchung gelangte ein aus einer Fabrik in Sebenico stammender Kalkstickstoff (Nr. 1,) den ich auch zu meinen früheren Untersuchungen verwendet hatte[2]) und ein käuflich erworbener Kalkstickstoff (Nr. 2).

I. Versuche mit Kalkstickstoff, der durch Filtration sterilisiert wurde.

Zur Verwendung kam in der ersten Versuchsserie eine Nährlösung von der Zusammensetzung 1000 ccm destilliertes Wasser, 2 g Kalkstickstoff, 25 g Dextrose, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$ und eine Spur $FeCl_3$. Nach längerem kräftigem Durchschütteln der Lösung blieb ein ungelöster Rest des Kalkstickstoffs zurück, der für die Versuche nicht weiter ausgenützt werden konnte. In der zweiten Versuchsserie wurde die Dextrose durch 10 g Mannit ersetzt.

Die Untersuchung erstreckte sich auf die nachfolgenden Schimmelpilze: Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum, Mucor γ Boidin, Cladosporium herbarum, Phytophthora infestans, Penicillium brevicaule, Aspergillus glaucus, Aspergillus niger, Isaria farinosa und ein rotes Fusarium (Fusisporium).

Mit Hilfe einer Platinnadel wurde je eine Spur der gut entwickelten, auf sterilen in Eprouvetten befindlichen Kartoffelstreifen gewachsenen Pilzkulturen in Erlenmeyerkolben übertragen, welche die sterile Kalkstickstoffnährlösung enthielten. Die Versuchstemperatur betrug 20° C., die Versuchsdauer 8 Wochen.

In der Dextrose-Kalkstickstofflösung Nr. 1 kamen Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum, Mucor γ Boidin, Cladosporium

---

[1]) F. Löhnis, Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie, Berlin, 1910, S. 591, 596. Der Einfluß eines Gehalts an Chlorkalzium bezw. Fluorkalzium auf die Mikroorganismenflora wurde von Sabaschnikoff untersucht. S. Löhnis a. a. O.

[2]) Ich erhielt diesen Kalkstickstoff vom Herrn Ing.-Chemiker Rudolf Miklauz, Adjunkten der k. k. landw.-chem. Versuchsstation in Wien, dem ich hierfür auch an dieser Stelle bestens danke.

herbarum und Phytophthora infestans zu einer ziemlich guten Entwicklung und zeigten auch, Mucor Boidin ausgenommen, der untergetaucht gewachsen war, eine zusammenhängende Deckenbildung, hingegen bemerkte man in den Kulturen der anderen Pilze nur geringfügige Flockenbildungen.

In der Mannit-Kalkstickstofflösung Nr. 1 brachten es nur Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum und Mucor Boidin zu einer schwachen Entwicklung.

In der Dextrose-Kalkstickstofflösung Nr. 2 kamen alle zehn Pilze, außer Aspergillus niger, der nur schwache Flockenbildung zeigte, zu einer ziemlich guten Entwicklung und Deckenbildung.

In der Mannit-Kalkstickstofflösung Nr. 2 erfuhren Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum, Mucor γ Boidin, Cladosporium herbarum und Penicillium brevicaule eine ziemlich gute Entwicklung, während die übrigen Pilze nur eine geringe Flockenbildung in der Nährlösung aufwiesen.

II. Versuche mit trocken sterilisiertem Kalkstickstoff.

Die in Erlenmeyerkölbchen zu je 50 ccm verteilte Nährlösung hatte die Zusammensetzung: 1000 ccm destilliertes Wasser, ca. 2 g Kalkstickstoff, 25 g Dextrose, 1 g KH_2PO_4, 0,5 g $MgSO_4$ und eine Spur $FeCl_3$.

Der Kalkstickstoff wurde durch 25 Minuten bei 100 ° C. erhitzt und unter Vermeidung einer Infektion in die Erlenmeyerkölbchen in entsprechender Menge eingebracht. Dann erfolgte die Impfung mit den früher angeführten zehn Schimmelpilzen, worauf die Versuchsgefäße und 4 ungeimpfte Kontrollgefäße durch 6 Wochen bei 20 ° C. gehalten wurden.

Die bei diesen Versuchen erzielten Resultate glichen ganz auffällig denen mit durch Filtration sterilisiertem Kalkstickstoff erhaltenen.

In der Kalkstickstofflösung Nr. 1 kamen Botrytis Bassiana, Penicillium glaucum, Mucor γ Boidin, Cladosporium herbarum und Phytophthora infestans zu einer deutlichen Entwicklung, während in den anderen geimpften Versuchskolben nur geringfügige Flockenbildungen zu bemerken waren. Die Kontrollkolben waren steril geblieben.

In der Kalkstickstofflösung Nr. 2 kamen alle zehn Pilze zur Entwicklung, die aber bei den beiden Aspergillus-Arten (Aspergillus glaucus und Aspergillus niger) und bei Penicillium brevicaule nur recht schwach war. Die Kontrollkolben erwiesen sich steril.

Es zeigte sich jedenfalls der Kalkstickstoff Nr. 2 für die Pilzentwicklung geeigneter als der Kalkstickstoff Nr. 1. In Nährlösungen,

die den Kalkstickstoff Nr. 2 enthielten, kamen ohne Rücksicht darauf, ob er durch Filtration oder durch Erhitzen sterilisiert worden war, auch solche Pilze, wie Penicillium brevicaule, Isaria farinosa, Fusarium, in geringerem Maße auch Aspergillus glaucus und Aspergillus niger zur Entwicklung, die in der mit dem Kalkstickstoff Nr. 1 versehenen Nährlösung, abgesehen von geringfügigen Flockenbildungen, nicht aufgekommen waren.

Auch das Pilz-Trockengewicht war in der Kalkstickstofflösung Nr. 2 ein größeres wie in der Kalkstickstofflösung Nr. 1. Es betrug in dem vorstehenden Versuch:

In der Nährlösung mit Kalkstickstoff Nr. 1.
Botrytis Bassiana: 0,08 g
Penicillium glaucum: 0,12 g
Cladosporium herbarum: 0,18 g.

In der Nährlösung mit Kalkstickstoff Nr. 2.
Botrytis Bassiana: 0,15 g
Penicillium glaucum: 0,2 g
Cladosporium herbarum: 0,24 g.

Die Pilzentwicklung war also in der Nährlösung, die den Kalkstickstoff Nr. 2 enthielt, eine sichtlich bessere, wie die hier angeführten Beispiele zeigen.

Selbst in dem Falle, als durch das Erhitzen eine geringfügige Zersetzung des Kalkstickstoffs wirklich stattgefunden hätte, erscheint dies für die hier angeführten vergleichenden Versuche ziemlich belanglos, da die beiden Kalkstickstoffsorten ganz gleich vorbehandelt worden waren.

Selbstverständlich werden auch verschiedene Kalkstickstoffsendungen derselben Herkunft einen Kalkstickstoff von recht ungleicher Zusammensetzung zeigen, der eine weitere verschiedenartige Veränderung durch die Art und Länge der Aufbewahrung erfährt.

Aus den hier angeführten Versuchen geht in Ergänzung und Bestätigung meiner früher veröffentlichten Befunde hervor, daß einzelne Schimmelpilzarten in Kalkstickstofflösungen gedeihen können, während andere ungünstig beeinflußt werden und nicht zur Entwicklung kommen, daß aber der Nährwert bezw. die Giftwirkung des Kalkstickstoffs jedenfalls in hohem Grade von der Menge und Art der Verunreinigungen des Kalkstickstoffs abhängen, ein Umstand, der selbstverständlich auch für den Düngewert des Kalkstickstoffs einigermaßen von Bedeutung erscheint.

Vorläufige Mitteilung über das Verhalten von Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen zu Jodverbindungen.

Von **Alexander Kossowicz** und **Walter Loew.**

Die von uns untersuchten Reinhefen und zwar Saccharomyces ellipsoideus I H., Sacch. cerevisiae I H., Sacch. apiculatus, Weinhefe Johannisberg II, Hefe Rasse XII und Schizosaccharomyces mellacei schieden in kaliumjodidhaltigen mineralischen Zuckerlösungen bei meist schwacher Entwicklung kein Jod ab. Ebenso verhielten sich, im Gegensatze zu der verallgemeinernden Angabe Raciborskis (Anzeiger der Akademie der Wissenschaften in Krakau, 1905/6, S. 693) die meisten von uns geprüften Schimmelpilze, z. B. Botrytis Bassiana, Isaria farinosa, Mucor γ Boidin, Fusisporium (Fusarium) usw. Eine kräftige Jodabscheidung bewirkten hingegen Penicillium glaucum und Asp. niger, während diese Erscheinung bei Cladosporium herbarum erst nach längerer Versuchsdauer und stattgefundener guter Entwicklung und Deckenbildung eintrat.

Den Versuchen Bokornys über das Verhalten von Preßhefe zu Kaliumjodid (Centralbl. f. Bakt. 2. Abt. Bd. 35, 1912, S. 135) kommt für diese Frage geringer Wert zu, da sie mit bakterienhaltiger Hefe ausgeführt wurden und die Bakterien überdies in seinen Hefen-Versuchen zu kräftiger Entwicklung kamen; nach einer Angabe von Kobert (Lehrbuch der Intoxikationen 1904, Bd. 2, S. 186), die von uns gegenwärtig näher geprüft wird, sind übrigens auch Bakterien zur Jodabscheidung befähigt.

Literaturliste der im 1. Halbjahre 1912 erschienenen Arbeiten auf dem Gebiete der landwirtschaftlichen Bakteriologie.

Von Professor Dr. **F. Löhnis.**

A. Futtermittel- und Molkerei-Bakteriologie.

Ayers, S. H. Casein media to milk analysis. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 67.

Barthel, Chr. und **Stenström, O.** Untersuchungen über die Widerstandskraft der Tuberkelbazillen gegen Erhitzung in Molken. Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene **22**, 1912, S. 137—142, 179—187.

Berthelot, A. et **Bertrand, D. M.** Recherches sur la flore intestinale. Isolement d'un microbe capable de produire de la β-imidoazolethylamine aux dépens de l'histidine. Compt. rend. hebd. de l'Acad. Paris **154**, 1912, S. 1643—1645.

Besana, C. Versuche mit Reinkulturen in der Parmesankäserei. Molk.-Ztg., Hildesheim, **26**, 1912, S. 555—556.

Boekhout, F. W. J. und **Ott de Vries, J. J.** Über die Konsistenz der Käsemasse. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 609—617.

Breed, R. S. Die Wirkung der Zentrifuge und des Separators auf die Verteilung der Zellelemente in der Milch, nebst einer Kritik der zur Bestimmung der Zellenzahl in der Milch verwendeten neueren Methoden. Arch. f. Hyg. **75**, 1912, S. 383—392.

Broadhurst, J. A biometrical study of milk streptococci. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref. **51**, 1912, S. 675—676.

Brown, C. W. Some actions of microorganisms upon the constituents of butter. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 69—70.

Budinow, L. Zur Physiologie des Bacterium lactis acidi. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 177—187.

Burri, R. und **Kürsteiner, J.** Zur Klärung der Anschauungen über die reduzierenden Eigenschaften der Kuhmilch. Milchw. Zentralbl. **41**, 1912, S. 41—44, 68—74, 101—105, 134—140, 168—172.

Cohendy, M. Expériences sur la vie sans microbes. Compt. rend. hebd. de l'Acad. Paris **154**, 1912, S. 533—536.

— Expériences sur la vie sans microbes. Ann. Institut Pasteur **26**, 1912, S. 106 bis 137, av. 4 fig.

Eisenheimer. Studien über Heugärung. Diss. med. Würzburg 1912.

Fischer, Alb. und **Andersen, E. B.** Experimentelles über die Säurebildung durch Bact. coli. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 289—292.

Fleischmann, Fr. Veränderungen, welche bei der Dürrheubereitung im Grase vor sich gehen. Landw. Vers.-Stat. **76**, 1912, S. 237—447.

G. Die Bestimmung der Anzahl der Bakterien der Milch. Deutsche milchw. Ztg. **17**, 1912, S. 114—115.

Gminder, A. Untersuchungen über Mastitis-Streptokokken und ihre Differenzierung von saprophytischen Streptokokken. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., **63**, 1912, S. 152—193.

Golding, J. Ropy milk. Journ. Board of Agric. **18**, 1912, S. 991—1005.

— Yellow discoloration of Stilton Cheese. Journ. Board of Agric. **19**, 1912, S. 177 bis 186, m. 1 Tafel.

Gorini, C. Das Verhalten der säure-labbildenden Bakterien (acido-proteolytischen Bakterien) des Käses gegenüber niedrigen Temperaturen hinsichtlich ihrer Mitwirkung beim Reifen der Käse. Milchw. Zentralbl. **41**, 1912, S. 13—17; Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**, 1912, S. 406—411.

— Sur la manière de se comporter des bactéries productrices d'acide et de présure (acido-protéolytiques) du fromage vis-à-vis des températures basses et leur intervention dans la maturation des fromages. Rev. génér. du lait **9**, 1912, S. 97—102.

— Über die rationelle Herstellung der Granakäse und anderer Käse. Milchw. Zentralbl. **41**, 1912, S. 178—181 (Übersetzung von J. Kaufmann nach Boll. uffic. del Ministerio di agricoltura etc. **10**, Ser. C, Fasc. 10, 1911 Oct.)

— Die frischen, gelagerten und getrockneten Rübenschnitzel in Beziehung zur Mikroflora und gesundheitlichen Beschaffenheit der Milch. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 35—40, Milchw. Zentralbl. **41**, 1912, S. 241—245.

— Untersuchungen über die säurelabbildenden Kokken des Käses. Zeitschr. f. Gärungsphysiol. **1**, 1912, S. 49—59.

Gratz, O. Die Verfolgung der Proteolyse im Käse mittels der Formoltitrierung. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel **23**, 1912, S. 379—384.

— Studien über die Antibiose zwischen Bacterium casei ε und den Bakterien der Coli-Aerogenes-Gruppe. Zeitschr. f. Gärungsphysiol. **1**, 1912, S. 256—281.

— und **Náray, A.** Vergleichende Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Katalase-, Reduktase- und Leukozyten-Probe zur Erkennung von Mastitis-Milchen. Milchw. Zentralbl. **41**, 1912, S. 225—232, 257—263, 289—303.

— und **Rácz, L.** Studien über die Bakterienflora des Brinsen- oder Liptauer Käses. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 401—407.

Grimmer, W. Zur Frage nach der Fermentnatur der Peroxydase. Milchw. Zentralbl. **41**, 1912, S. 165—168.

Hanssen. Untersuchungen am Hund über den Einfluß infizierter Milch auf das Bakterien-Wachstum im Verdauungstraktus, speziell im Magen. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., **62**, 1912, S. 89—126.

Harding, H. A. Über den Wert bakteriologischer Keimzählungen bei der Kontrolle städtischer Milchversorgungen. Centralbl. f. Bakt., II. Abt, **32**, 1912, S. 196.

— The bacteriological improvement of a milk supply by other than laboratory means. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 70—71.

— und **Wilson, J. K.** Beziehungen zwischen der Form des Melkeimers und dem Keimgehalt der Milch. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**, 1912, S. 195.

Harrison, F. C. and **Savage, Alfr.** The bacterial content of the normal udder. Rev. génér. du lait **9**, 1912, S. 121—131.

Henneberg, W. Über Atmung, Fäulnis, Selbsterhitzung und chemische Zusammensetzung der Kartoffeln unter verschiedenen Verhältnissen. Zeitschr. f. Spirit.-Ind. 1912, Erg.-Heft 2, S. 15—33.

— Kefir und seine Bereitung. Zeitschr. f. Spirit.-Ind. **35**, 1912, S. 170—177, 184—185.

Hesse, A. Katalase in Butter. Molk.-Ztg., Hildesheim, **26**, 1912, S. 81—84.

— Untersuchung von Reinkulturen für die Ansäuerung des Rahmes durch die Katalase-Bestimmung. Molk.-Ztg., Hildesheim, **26**, 1912, S. 375—376, 399—400.

Hittcher. Prüfung und Beurteilung von Kindermilch. Mitt. d. Deutsch. Milchw. Vereins **29**, 1912, S. 81—92.

Hohenadel, M. Yoghurt-Trockenpräparate. Pharmaz. Ztg. **57**, 1912, S. 218—219.

Hueppe, F. Über Trockenmilch. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., **64**, 1912, S. 34—44.

Huyge, C. Etude expérimentale de la machine à traire „Wallace“. Rev. genér. du lait **9**, 1912, S. 49—56, 80—87.

Jensen, Orla. Der jetzige Stand der Käsereifungs-Frage (Vortrag geh. bei der Eröffnung d. 5. milchw. Kongresses in Stockholm). Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**, 1912, S. 202—209.

Kinyoun, J. J. and **Deiter, L. V.** A bacteriological study of the milk supply of Washington D. C. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 70.

Kooper, W. D. Sind Alkalität und „Peroxydase“ der Milch identische Begriffe? Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel **23**, 1912, S. 1—13.

Kossowicz, A. Mykologische und warenkundliche Notizen. 2. Mitt. Zeitschr. f. d. landw. Vers.-Wesen in Österreich **15**, 1912, S. 737—754.

Kühl, H. Der Milchzucker. Molk.-Ztg., Hildesheim, **26**, 1912, S. 31—32.

— Joghurt. Zeitschr. f. öffentl. Chemie **18**, 1912, S. 101—104.

Kühn, B. Über den Einfluß von Konservierungsmitteln auf die Guajakprobe roher und abgekochter Milch. Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. **22**, 1912, S. 115—124.

Kürsteiner, J. Zur Frage der Behandlung und Verwendung des Käsereisauers. Schweiz. Milch-Ztg. 1912, Nr. 44; Molk.-Ztg., Berlin, **22**, 1912, S. 302—303.

Laxa, O. Über nicht schlagbares Obers. Milchw. Zentralbl. **41**, 1912, S. 369—373.

Löhnis, F. Fortschritte der landwirtschaftlichen Bakteriologie. I. (Sammelreferat.) Zeitschr. f. Gärungsphysiol. **1**, 1912, S. 68—88.

Macdonald, W. N. Hand drawn milk versus machine drawn milk. Veterin. Journ. **68**, 1912, S. 30—32.

Nègre, L. Les bactéries thermophiles (Revue). Bull. Inst. Pasteur **10**, 1912, S. 385 bis 395, 433—444.

Nierenstein, M. Contributions to the Chemistry of Cheddar Cheese. Journ. Agric. Science **4**, 1912, S. 225—244.

— and **Stubbs, J.** The action of rennet on milk. Journ. Agric. Science **4**, 1912, S. 371—375.

Olsen-Sopp, Olav Johann. Taette, die urnordische Dauermilch und verwandte Milchsorten sowie ihre Bedeutung für die Volksernährung. (Erste Serie). Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 1—54, m. 1 Tafel.

Pflugradt, H. Der Nachweis von erhitzter Milch. Mitt. d. Deutsch. Milchw. Ver. **29**, 1912, S. 68—75.

Piorkowski. Yoghurt-Trockenpräparat. Pharmaz. Ztg. **57**, 1912, S. 251—252.

Puppel, R. Über Streptokokken in der Milch und im Säuglingsstuhl. Zeitschr. f. Hyg. **70**, 1912, S. 449—496.

Rahn, O. Die Stundengärleistung der Einzelzelle von Bact. lactis acidi. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**, 1912, S. 375—406.

Rammstedt, O. Gewinnung und Beurteilung hygienisch einwandfreier Kuhmilch. Chemiker-Ztg. **36**, 1912, S. 645—648.

Revis, C. The selective action of media on organisms of the „Coli“-group, and its bearing on the question of variation in general. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 407—423.

— Coccoid forms of B. coli, and the methods of attack on sugars by B. coli in general. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 424—428.

Richmond, H. D. und **Huish, H. C.** Das Säuern der Milch. The Analyst **37**, 1912, S. 168—172. Ref. Chem. Centralbl. 1912, II, S. 52.

Rievel, H. Der Wert der Guajaktinkturprobe zur Unterscheidung roher und erhitzter Milch. Deutsche tierärztl. Wochenschr. **20**, 1912, S. 161—162.

Rogers, L. A. Die Verwendung von Gärproben bei der Untersuchung von Milchsäure-Bakterien. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**, 1912, S. 195.

— and **Davis, B. J.** A study of gas forming bacteria in milk. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 68—69.

Römer, P. H. Zur Schardinger-Reaktion der Kuhmilch. Biochem. Zeitschr. **36**, 1911, S. 357—362.

Rosengren, L. Fr. Untersuchungen nach der Ursache des sog. „Hefegeschmackes" der Butter. Milchw. Zentralbl. **41**, 1912, S. 321—329.

Ross, H. E. The cell content of milk. Journ. Infect. Diseases **10**, 1912, S. 7.

Ruediger, G. F. A study of thirty-five strains of streptococci isolated from samples of milk. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref., **51**, 1912, S. 675.

Ruehle, G. L. The principle of vacuum cleaning as applied to dairy cows. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 71—72.

Rühm, G. Die chemischen und bakteriologischen Untersuchungs-Methoden der Milch. II. Teil. Die bakteriologische Untersuchung der Milch. Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhyg. **22**, 1911/12, S. 89—92, 142—148.

Saito, Y. Versuche zur Abgrenzung des Streptoc. acidi lactici von Streptoc. pyogenes und Streptoc. lanceolatus. Arch. f. Hyg. **75**, 1912, S. 121—133.

Salus, G. Untersuchungen zur Hygiene der Kuhmilch. Arch. f. Hyg. **75**, 1912, S. 353—370.

— Versuche über den Ursprung und die Möglichkeit quantitativer Auswertung der Aldehydkatalase der Kuhmilch. Arch. f. Hyg. **75**, 1912, S. 371—382.

Schern, K. und **Schellhase, W.** Beitrag zur Kenntnis der Guajak-Guajacol-Probe. Berlin. tierärztl. Wochenschr. **28**, 1912, S. 221—223.

Schorer, E. H. Recent developments in pasteurisation of milk for general market. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 74—75.

Schroeter, O. Vergleichende Prüfung bakteriologischer und biochemischer Methoden zur Beurteilung der Milch. Diss. phil. Leipzig 1912, 64 S. Orig.-Ref. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**, 1912, S. 181—192.

Schroeter. Beiträge zur Frage der Sterilisation von Trinkwasser mittels ultravioletter Strahlen. Zeitschr. f. Hyg. **72**, 1912, S. 189—212.

Schütze, H. Über die Zunahme des Fettes in aufbewahrtem Weichkäse und Fleisch mit Rücksicht auf die Frage der Leichenwachsbildung. Arch. f. Hyg. **76**, 1912, S. 116—136 (spez. S. 128—135).

Siegfeld, M. Kleine Mitteilungen aus der Laboratoriums-Praxis. I. Storchsche Reaktion. Molk.-Ztg., Hildesheim, **26**, 1912, S. 617.

Söhngen, N. L. Über fettspaltende Mikroben und deren Einfluß auf Molkereiprodukte und Margarine. Folia Microbiologica **1**, 1912, Heft 3 (Juni), 44 S., m. 5 Tafeln.

Spieckermann, A. Die Zersetzung der Fette durch höhere Pilze. I. Der Abbau des Glyzerins und die Aufnahme der Fette in die Pilzzelle. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel **23**, 1912, S. 305—331, m. 3 Taf.

Stokes, G. A. Bemerkung über ein neues Konservierungsmittel für Milch, Rahm usw. The Analyst **37**, 1912, S. 178. Ref. Chem. Centralbl. 1912, II, S. 53.

Stokes, W. R. and **Hachtel, F. W.** The control of pasteurized milk by physical and bacteriological standards. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 73—74.

Stowell, E. C. and **Hilliard, C. M.** A comparison of streptococci from milk and from the human throat. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref., **51**, 1912, S. 674—675.

Trillat, A. Action des gaz putrides sur le ferment lactique. Compt. rend. hebd. de l'Acad. Paris **154**, 1912, S. 372—374.

— Etude sur les causes du caillage du lait observé pendant les periodes orageuses. Compt. rend. hebd. Acad. Paris **154**, 1912, S. 613—616.

— Influence favorable exercée sur le développement de certaines cultures par l'association avec le Proteus vulgaris. Compt. rend. hebd. de l'Acad. Paris **154**, 1912, S. 1116—1118.

— et **Fouassier.** Influence de la nature des gaz dissous dans l'eau sur la vitalité des microbes. Compt. rend. hebd. Acad. Paris **154**, 1912, S. 786—788.

— — Etude des propriétés du destillat d'une culture de B. Proteus sur la vitalité des microbes. Compt. rend. hebd. de l'Acad. Paris **154**, 1912, S. 1443—1445.

Weigmann, H. Über die Brauchbarkeit der Guajaktinktur zum Nachweis einer ausreichenden Pasteurisierung der Milch. Milchw. Zentralbl. **41**, 1912, S. 33—39.

— und **Wolff, A.** Weitere bakteriologische Untersuchungen aus der milchwirtschaftlichen Praxis. Milchw. Zentralbl. **41**, 1912, S. 2—6, 65—68, 97—100, 129—134.

B. Dünger- und Bodenbakteriologie.

Anonym. Über den Wert der Bakterienimpfung beim Anbau von Futter- und Gründüngungspflanzen. Der prakt. Landwirt, Magdeburg, **31**, 1912. S. 71—73.

Barthel, Chr. und **Rhodin, S.** Eine biologische Methode zur Konservierung des Stalldüngers. Deutsche landw. Presse **39**, 1912, S. 583—584, 597—598.

Beke, L. von. Vegetationsapparat für Infektionsversuche an höheren Pflanzen. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 442—447, m. 4 Textfig.

Bernhard. Versuche über die Wirkung des Schwefels als Dung im Jahre 1911. Deutsche landw. Presse **39**, 1912, S. 275.

Bottomley, W. B. The Root Nodules of Myrica Gale. Ann. of Botany **26**, 1912, S. 111—116, w. 2 plates.

Boullanger, E. Action du soufre en fleur sur la vegetation. Compt. rend. hebd. de l'Acad. Paris **154**, 1912, S. 369—370.

— Études sur les engrais catalytiques. Ann. Inst. Pasteur **26**, 1912, S. 456—466.

Brown, P. E. Some bacteriological effects of liming. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 148—172.

Caron, H. von. Untersuchungen über die Physiologie denitrifizierender Bakterien. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 62—116.

Clark, H. W. and **Adams, G. O.** The influence of carbon on nitrification. Journ. Ind. Eng. Chem. **4**, 1912, S. 272. Ref. Chem. Ztg. Repert. **36**, S. 356.

Combes, R. Sur une methode de culture des plantes superieures en milieux stériles. Compt. rend. hebd. Acad. Paris **154**, 1912, S. 891—893.

Conn, H. J. Bakterien im gefrorenen Boden. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**, 1912, S. 198.

— The Distribution of bacteria in certain New York soils. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 63.

Demolon, A. Sur l'action fertilisante du soufre. Compt. rend. hebd. de l'Acad. Paris **154**, 1912, S. 524—526.

Dojarenko, A. G. Einige Vegetationsversuche (Bodenimpfung, Bodensterilisation). Ann. Inst. agron. Moscou **18**, 1912, livr. 1, S. 155—162 [russisch].

Duggar, B. M. and **Prucha, M. J.** The behaviour of Pseudomonas radicicola in the soil. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 67.

Ehrenberg, P. Zur Ammoniakverdunstung aus Erdboden; gleichzeitig einige Ausführungen über Stickstoffbilanz-Gefaßversuche. Fühlings landw. Ztg. **61**, 1912, S. 41—53.

Ehrlich, F. und **Pistschimuka, P.** Überführung von Aminen in Alkohole durch Hefen und Schimmelpilze. Ber. dtsch. chem. Gesellsch. **45**, 1912, S. 1006—1012.

Eichinger, A. Über Leguminosenanbau und Impfversuche. Der Pflanzer **8**, 1912, S. 190—219.

Feilitzen, Hj. von. Noch einmal Azotogen, Nitragin und Naturimpferde (Erwiderung). Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**, 1912, S. 449—451.

Folsinger, L. Neue Forschungsergebnisse über den Stickstoff-Haushalt des Ackerbodens. Wiener landw. Ztg. **62**, 1912, S. 10—11.

Fletcher, F. Toxic Excreta of Plants. Journ. Agric. Science **4**, 1912, S. 245—247, w. 1 plate.

Franzen, H. und **Egger, F.** Beiträge zur Biochemie der Mikroorganismen. VI. Über die Vergärung der Ameisensäure durch B. prodigiosus in konstant zusammengesetzten Nährböden. Zeitschr. f. physiol. Chemie **79**, 1912, S. 177—214.

Fred, E. B. Eine physiologische Studie über die nitratreducierenden Bakterien. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**, 1912, S. 421—449, m. 6 Tafeln und 9 Curven.

Gerlach und **Densch.** Über den Einfluß organischer Substanzen auf die Umsetzung und Wirkung stickstoffhaltiger Verbindungen. Mitt. Kaiser Wilh. Inst. Bromberg **4**, 1912, S. 259—317.

Greig-Smith, R. The agricere and the bacteriotoxins of the soil. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 224—226.

— Bacterial slimes in soil. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 226—227.

— The determination of Rhizobia in the soil. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 227—229.

Heinze, B. Die spezielle Bedeutung einer verstärkten Bodendurchlüftung für Bodenorganismen und Pflanzenbau. Deutsche landw. Presse **39**, 1912, S. 494—498.

Henschel, G. Das Verhalten des technischen Calciumcyanamids bei der Aufbewahrung sowie unter dem Einfluß von Culturböden und Colloiden. Diss. phil. Leipzig, 1912, 72 S.

Hutchinson, H. B. and **Miller, N. H. J.** The direct Assimilation of Inorganic and Organic Forms of Nitrogen by Higher Plants. Journ. Agric. Science **4**, 1912, S. 282—302, w. 1 plate.

Kellerman, K. F. The present status of soil inoculation. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 42—50, w. 2 plates.

— and **Mc Beth, J. H.** Soil organism which destroy cellulose. Centralbl. f. Bakt. II. Abt., **34**, 1912, S. 63—64.

Kossowicz, A. Einführung in die Agrikulturmykologie. I. Teil: Bodenbakteriologie. VIII u. 143 S. 47 Textabb. Berlin (Gebr. Borntraeger) 1912.

— Die Zersetzung von Harnstoff, Harnsäure, Hippursäure und Glykokoll durch Schimmelpilze. Zeitschr. f. Gärungsphysiol. **1**, 1912, S. 60—62.

— Die enzymatische Natur der Harnsäure- und Hippursäure-Gärung. Zeitschr. f. Gärungsphysiol. **1**, 1912, S. 121—123.

— Über das Verhalten einiger Schimmelpilze zu Kalkstickstoff. Zeitschr. f. Gärungsphysiol. **1**, 1912, S. 124—125.

— Die Bindung des elementaren Stickstoffs durch Saccharomyceten (Hefen), Monilia candida und Oidium lactis. Zeitschr. f. Gärungsphysiol. **1**, 1912, S. 253—255.

Kühl, H. Die Bedeutung der Bodenbakterien und der Einfluß der Düngung auf ihre Tätigkeit. Landw. Annalen d. Mecklenb. patr. Vereins [N. F.] **51**, 1912, S. 149—150.

Liechti, P. und **Ritter, E.** Zur Frage der Ammoniakverdunstung aus Erdboden. Fühlings landw. Ztg. **61**, 1912, S. 83—109.

Lieske, R. Untersuchung über die Physiologie denitrifizierender Schwefelbakterien. Sitzungs Ber. d. Akad. Heidelberg. Mathem. naturw. Kl. [B] 1912, 6. Abhandlung, 28 S.

Lindner, P. Neuere Ergebnisse bei Assimilationsversuchen mit verschiedenen Hefen und Pilzen. Chemiker Ztg. **36**, 1912, S. 638.

Lipman, Ch. B. Toxic Effects of „Alcali Salts“ in Soil on Soil Bacteria. II. Nitrification. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 305—313.

Mann, H. H., Joshi, N. V. and **Kanitkar, N. V.** The „Rab“ system of rice cultivation in Western India. Mem. Dept. Agric. India. Chem. Ser. **2**, 1912, S. 141—191.

Masoni, G. Versuche über den Einfluß der mit Jauche auf den Boden gebrachten Bakterien auf seine Fruchtbarkeit. Staz. sperim. agrar. ital. **45**, 1912, S. 191—213. Ref. Chem. Centralbl. 1912, I, S. 1635.

Miehe, H. Über Symbiose von Bakterien und Pflanzen. Biolog. Centralbl. **32**, 1912, S. 46—50.

Molisch, H. Neue farblose Schwefelbakterien. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 55—62, m. 2 Tafeln.

Molliard, M. L'humus est-il une source directe de carbone pour les plantes vertes supérieures? Compt. rend. hebd. de l'Acad. Paris **154**, 1912, S. 291—294.

Müntz, A. et **Gaudechon, H.** Le reveil de terre. Compt. rend. hebd. de l'Acad. Paris **154**, 1912, S. 163—168.

Neumann, G. Impfversuche mit verschiedenem Nitragin zu Rotklee. Balt.Wochenschr. **50**, 1912, S. 136—138.

Niklewski, B. Bodenbakteriologische Beobachtungen als Mittel zur Beurteilung von Böden. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**. 1912. S. 209—217.

Peck, S. S. Influence of molasses on nitrification in cane soils. Exp. Stat. Hawaiian Sugars Planters' Association Bull. **39**, 1912. Ref. Journ. Chem. Soc. 102, II, S. 595.

Pfeiffer, Th. Stickstoffsammelnde Bakterien, Brache und Raubbau. 2. Aufl. 100 S. Berlin (Parey) 1912.

— und **Blanck, E.** Beitrag zur Frage über die Wirkung des Mangans auf das Pflanzenwachstum. Landw. Vers.-Stat. **72**, 1912, S. 33—66.

Prazmowski, A. Die Entwicklungs-Geschichte, Morphologie und Cytologie des Azotobacter Chroococcum Beijer. (Vorläufige Mitteilung). Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 292—305.

— Azotobacter-Studien. I. Morphologie und Cytologie. Anz. Akad. Krakau, Mathem.-naturw. Kl. [B], 1912. S. 87—174, m. 3 Taf.

Pringsheim, H. Über den fermentativen Abbau der Cellulose. Zeitschr. f. physiol. Chemie **78**, 1912, S. 266—291.

Prucha, M. J. The persistance and vitality of bacteria on alfalfa seed. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 66.

Rahn, O. Der Einfluß von Quarzsand auf Bakterienkulturen. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**, 1912, S. 201.

Ritter, G. A. Das Trocknen der Erden. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 116—143.

Rösing, H. Zusammenfassung der Ergebnisse von Untersuchungen über die Stickstoffsammlung von Azotobacter chroococcum. Zugleich eine Erwiderung der Kritik Kaserers. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 618—623.

Rullmann, W. Über Eisenbakterien. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 277 bis 288, m. 2 Tafeln.

Russell, E. J. and **Petherbridge, F. R.** Partial sterilisation of Soil for Glasshouse Work. Journ. Board Agric. **18**, 1912, Nr. 10.

Sakkett, W. G. Bakteriologische Untersuchungen über die Stickstoffbindung in gewissen Bodenarten von Colorado. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 81—115, m. 5 Textfig.

Sazaki, T. und **Otsuka, J.** Experimentelle Untersuchungen über die Schwefelwasserstoff-Entwicklung der Bakterien aus Cystin und sonstigen Schwefelverbindungen. Biochem. Zeitschr. **39**, 1912, S. 208—215.

Scheffler, W. Bakteriologisch-chemische Untersuchungen über den Stalldünger, speziell über den Einfluß verschiedener Konservierungsmittel auf die Bakterienflora und die Gärungsvorgänge. Nebst Einleitung von O. Lemmermann. Landw. Jahrb. **42**, 1912, S. 429—547.

Schulow, Iw. Die Anwesenheit von nitrifizierenden Bakterien in gewöhnlichen Sandkulturen. Russ. Journ. f. experim. Landw. **13**, 1912, S. 211—215 [russ. m. deutsch. Zsmfssg].

Schwers, H. Megalothrix discophora, eine neue Eisenbakterie. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 273—276, m. 5 Tafeln.

Sewerin, S. A. Die Mobilisierung der Phosphorsäure des Bodens unter dem Einfluß der Lebenstätigkeit der Bakterien. 2. Mitteilung. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**, 1912, S. 498—520.

Simon, J. Bericht über die Arbeiten aus dem bakteriolog. Laboratorium der Königl. Pflanzenphysiol. Versuchsstation (zu Dresden) f. die Jahre 1909 und 1910. Sächs. landw. Zeitschr. **60**, 1912, S. 16—19.

Spratt, E. R. The Morphology of the Root Tubercles of Alnus and Elaeagnus and the Polymorphism of the Organism causing their Formation. Ann. of Botany **26**, 1912, S. 119—127, w. 2 plates.

Stevens, F. L. Nitrates in soils. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 64.

— and **Withers, W. A.** Studies in soil bacteriology. V. The nitrifying and ammonifying powers of North Carolina soil. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 187—203.

Stewart, R. and **Greaves, J. E.** The production and movement of nitric nitrogen in soils. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 115—147.

Sullivan, M. X. Biochemische Faktoren im Boden. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**, 1912, S. 198.

Teisler, E. Azotogen, Nitragin oder Naturimpferde? Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 50—56.

Temple, J. C. Why do some soils nitrify organic nitrogenous substances and the ammonia salts of organic acids faster than they do ammonium sulphate or ammonium chloride? Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 64.

— The influence of stall manure upon the bacterial flora of the soil. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 204—223.

Twort, F. W. and **Mellanby, E.** Über Kreatin zerstörende Bacillen im Darm und ihre Isolierung. Journ. of Physiol. **44**, 1912, S. 43—49, ref. Chem. Centralbl. 1912, II, S. 201.

Vogel, J. Ammoniak- und Salpeter-Assimilation durch Mikroorganismen des Bodens. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**, 1912, S. 169—179.

— Untersuchungen über das Kalibedürfnis von Azotobacter. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**, 1912, S. 411—421.

Wilson, J. K. Untersuchungen über die Desinfektion von Grassamen. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**, 1912, S. 201.

— und **Harding, H. A.** Eine Methode, um Bakterien von wachsenden Pflanzen abzuhalten. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**, 1912, S. 202.

Wolff, M. Über Bodenprotozoen. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 314—320.

Referate.

Harden, A. und Paine, S. G. Action of dissolved substances upon the Autofermentation of Yeast. Proceedings of the Royal Society **84,** 1912, S. 448—459. Ref. Journ. of the Institute of Brewing **18,** 1912, S. 468.

Die Bildung von Kohlensäure durch die Selbstgärung der Hefe wird von wenigstens zwei Enzymen bewirkt, der Glykogenase, welche das Glykogen der Hefe in Zucker verwandelt, und der Zymase, welche den Zucker in Alkohol und Kohlensäure spaltet. Weil die Selbstgärung weniger schnell verläuft als die Gärung der Hefe, wenn Zucker vorhanden, muß der Grad der Selbstgärung durch die in der Zelle produzierte Menge von Zucker kontrolliert werden, d. h. durch den Wirkungsgrad der Glykogenase, so daß ein Größerwerden der Selbstgärung auf eine intensivere Wirkung dieses Enzyms in der Zelle hinweist. Bei Anwesenheit einer molaren Lösung von Kochsalz geht die Selbstgärung viel schneller vor sich, als wenn nur Wasser gegenwärtig ist; die beste Konzentration von Kochsalz variiert bei verschiedenen Hefen, sie liegt sehr in der Nähe der molaren. Andere Salze, z. B. verschiedene Chloride und Sulfate und die Natriumsalze der Phosphorsäure, Hexosephosphorsäure, Arsensäure, Essigsäure, Apfelsäure, Zitronensäure, Milchsäure, Brenzweinsäure und Glyzerinsäure beschleunigen auch die Selbstgärung. Es ist möglich, daß die Salze der organischen Säuren selbst die Quelle der Kohlensäurebildung sind; weil aber diese Erscheinung von dem Verschwinden der in Frage stehenden Säure begleitet ist, ist es leicht, sie von dem von den Verfassern studierten Phänomen zu unterscheiden. Die Vergärung des Zuckers mittels Hefe bei Gegenwart einer molaren Lösung von Kochsalz geht weniger schnell vor sich als bei Gegenwart von Wasser, so daß die Steigerung der Selbstgärung bei Gegenwart von Kochsalz aller Wahrscheinlichkeit nach auf die Wirkung der Glykogenase zurückzuführen ist. Rücksichtlich der Steigerung der Selbstgärung, von den Salzen hervorgerufen, haben Verfasser gefunden, daß gelöste Stoffe, welche eine Plasmolyse der Hefezellen hervorrufen, auch die Selbstgärung erhöhen, und daß solche Stoffe in Lösungen von gleichem osmotischen Druck auch die Selbstgärung in gleichem Maße beschleunigen; Stoffe wie z. B. Harnstoff, welche selbst in konzentrierter Lösung keine Plasmolyse bewirken, haben keine beschleunigende Wirkung auf die Selbstgärung. Es scheint deshalb, daß Entfernung von Wasser aus den Zellen (also eine Konzentration des Zellinhaltes), das Resultat der Plasmolyse, ein wesentlicher Faktor bei der Beschleunigung der Selbstgärung ist. Diese Annahme

wird durch die Tatsache gestützt, daß, wenn Preßhefe durch einen Luftstrom teilweise getrocknet wird, der Grad der Selbstgärung wesentlich gesteigert wird. Toluol bewirkt auch eine wesentliche Steigerung der Selbstgärung; als Grund hierfür dürften wohl andere Faktoren als die Plasmolyse anzunehmen sein. J. Chr. Holm.

Hanzawa, J. Untersuchungen über die Pilze auf den getrockneten Boniten oder „Katsuobushi". Journ. Coll. Agric., Tohoku Imp. Univ., Sapporo, Japan, Vol. IV, Part. V, 1911, S. 215—242. Mit 5 Tafeln.

Auf den getrockneten Boniten wurden vom Verfasser aufgefunden: Apergillus glaucus Link, Aspergillus flavo-viridescens n. sp., Asp. candidus, Asp. ochraceus Wilh., Penicillium glaucum Link, Catenularia fuliginea Saito, Torula sp., Cladosporium herbarum (Pers.) Link und Oospora glabra n. sp. Insbesondere gedeihen Aspergillus glaucus, Penicillium glaucum und Torula sp. reichlich auf dem Katsuobushi. Im letzten Stadium der Verschimmelung entwickelt sich aber nur Asp. glaucus, welcher die Oberfläche des Katsuobushi verbessert, während Penicillium glaucum und Torula sp. sie verschlechtern.

Auf dem völlig getrockneten und wasserarmen Bonitenfleische entwickelt sich (besonders bei 25—26° C) Aspergillus glaucus, auf dem wasserreichen Katsuobushi aber Penicillium glaucum und Torula sp. Die Zusammensetzung des Katsuobushi nach seiner Verschimmelung ist verschieden nach den verschiedenen Pilzarten, so vermindert Penicillium glaucum den Wassergehalt, verzehrt mehr Nichteiweißstoffe als Asp. glaucus und Torula sp., aber nur die letzteren spalten mehr Fett ab. Nach der Ansicht des Verfassers ist der zur Katsuobushibereitung erforderliche Pilz wohl Asp. glaucus Link.

Die beigefügten Tafeln sind teilweise koloriert und sehr lehrreich.

K. Saito.

Chapman, Ch. Untersuchungen über das Aluminium mit besonderer Berücksichtigung seiner Verwendbarkeit zu Brauereigeräten. Journ. of the Inst. of Brewing, 1911, S. 660.

Wie aus den Arbeiten von Watson Smith einerseits, von Ditte andererseits hervorgeht, ist das Aluminium als Gefäßmaterial nicht für alle Zwecke der Brauerei geeignet. Besonders gefährlich sind nach Ansicht des Verfassers Chloride für Aluminium, namentlich bei Gegenwart von CO_2 oder Karbonaten. Das Aluminium wird hierbei nach folgenden Formeln zersetzt (nach Ditte):

$$Al_2 + 6\,NaCl + 3\,H_2O = Al_2Cl_6 + 3\,Na_2O + 3\,H_2$$
$$Al_2Cl_6 + 3\,Na_2O = Al_2O_3 + 6\,NaCl$$
$$Al_2O_3 + 6\,NaCl + 3\,CO_2 = Al_2Cl_6 + 3\,Na_2CO_3$$
$$\text{oder } Al_2 + 2\,Na_2CO_3 + 4\,H_2O = Na_2Al_2O_4 + 2\,NaHCO_3 + 3\,H_2.$$

Besonders leicht unterliegt unreines Aluminium der Zersetzung. Verfasser empfiehlt Aluminiumgeräte nur mit heißem von Chloriden und Karbonaten

freien Wasser zu reinigen und von der Benutzung saurer und alkalischer Waschwässer ganz abzusehen. Verfasser untersuchte die Verwendbarkeit des Aluminiums für Gärgefäße in Brauereien. Er fand die Gärung normal, obwohl die Würze 2 mg Aluminium pro Liter gelöst hatte. Biere, welche 7 Tage lang in Aluminiumgefäßen aufbewahrt wurden, enthielten dagegen pro Liter nur 0,6—1,4 mg Aluminium. Auch für Transportgebinde empfiehlt Verfasser Aluminium, da er gefunden hatte, daß in solchen Gefäßen das Bier nicht nachschleimt. Zikes.

Beauverie, J. Die biometrische Methode und ihre Anwendung zum Studium der Hefen. Compt. rend. de Biolog. t. 72, 1912, S. 142.

Schon früher wurden biometrische Untersuchungen an Bakterien, so von Winslow und Anne Bogers an Mikrokokken, von Andrewes und Horder an Streptokokken vorgenommen. Verfasser hat diese Messungen auch auf Hefen übertragen. Er machte seine Studien an einer Cryptococcus Lesieurii bezeichneten Hefe und gibt der Meinung Ausdruck, daß diesen Untersuchungen noch eine große Bedeutung zur Unterscheidung der einzelnen Hefearten zukommen werde. Zikes.

Scheckenbach, J. Beiträge zur Kenntnis der Torulaceen in chem.-physiol. Beziehung. Dissertation, Erlangen 1911.

Will hat von seinem Schüler Scheckenbach verschiedene Torulaarten, welche der zweiten den Mykodermaarten näherstehenden Untergruppe dieser Pilze angehörten, in chemisch-physiologischer Richtung untersuchen lassen. Die meisten derselben vergären Glukose, Lävulose, Galaktose, Saccharose, Maltose und Milchzucker. Außer Kohlensäure wurden auch noch andere Säuren gebildet. Scheckenbach beobachtete, daß die untersuchten Torulaarten nicht allein Alkohol zu bilden vermochten, sondern diesen Körper auch verzehren konnten. Auch verschiedene Säuren konnten sie assimilieren.

Sämtliche untersuchte Arten vermehrten sich auch auf stickstoffreien Nährböden, woraus geschlossen wurde, daß sie den Stickstoff der Luft als Stickstoffquelle benutzen[1]). Auch waren die meisten Farbstoffbildner und konnte bei manchen zwischen Farbstoffbildung und Zusammensetzung des Nährbodens ein Zusammenhang gefunden werden. Verfasser fand, daß die untersuchten Farbstoffe durch Licht in ihrer Entwicklung gehemmt werden. Zikes.

Euler, H. und Johansson, D. Umwandlung des Zuckers und Bildung der CO_2 bei der alkoholischen Gärung. Zeitschr. f. phys. Chem. 76, 1912, 347.

Gegenüber der Inversion von Rohrzucker verläuft die Spaltung von Maltose verhältnismäßig langsam. Verfasser erklären dies damit, daß die

[1]) Anmerk. d. Red. Vergl. Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. I, S. 253, und Bd. II, S. 111 (Anmerkung) und Will und Schneckenbach, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 34, 1912, S. 1.

Maltase entgegen der Invertase in den meisten Bierhefen fast vollständig mit dem Protoplasma verbunden ist. Eine Folge davon ist, daß die Zersetzung der Maltose zu Glukose nur wenig schneller vor sich geht wie ihre Vergärung, weiter daß die Inversion der Maltose neben deren Vergärung schwer zu messen ist. Das Entstehen von Glukose während der Vergärung von Maltose ist zuerst von Fischer untersucht worden, indem er Osazone herstellte, dann das Gemisch mit Wasser verkochte und das restierende Glukosazon wog. Diese Methode ist jedoch nicht quantitativ durchführbar, wie Fischer selbst erklärte. Besser erscheint es den CO_2-Verlust und den Rückgang der optischen Drehung zu messen, und aus letzterem unter Berücksichtigung des vergorenen Zuckers die Menge der zersetzten Maltose zu berechnen. Jedoch ergeben sich auch hier Differenzen. Die erzeugte CO_2-Menge steht nicht in Relation mit der Drehungsdifferenz. Harden und Young wie auch Buchner und Meisenheimer nehmen als Ursache eine enzymatische Reversion an. Doch ist auch die Annahme nicht von der Hand zu weisen, daß die Differenz auf der Bildung von Zwischenprodukten beruht. Solche Zwischenprodukte nehmen bekanntlich auch Buchner und Meisenheimer, Harden und Young, Iwanoff und Lebedeff an. Verfasser dieses suchten gleichfalls dieser Frage näher zu treten. Sie fanden, daß bei Beginn der Gärung die Differenz zwischen Drehung und CO_2-Bildung rasch zunimmt, und dann ein Maximum erreicht, daß dieses Maximum von der Temperatur, von der Konzentration des Zuckers, von der Menge der Hefe abhängig ist. Sie sind der Ansicht, daß wahrscheinlich ein ganz spezifisches Enzym diese Differenz verursacht, welches sie am besten zu den revertierenden Enzymen zu stellen glauben. Zikes.

Stephan, A. Über Dauerhefepräparate. Chem. Zentralbl. II, 1911, S. 1543.

Verfasser unterwarf mehrere Dauerpräparate der Hefe einer vergleichenden Untersuchung. Es waren Mercksche Trockenhefe, Zymin, Furoncoline, Fermozyltabletten, Geschers-Furunkulosetabletten, Levurinose.

Furoncoline und Levurinose zeigten den niedersten Aschegehalt, Zymin den niedersten Wassergehalt. Zymin wies die stärkste Gärkraft auf, ähnlich verhielten sich auch die Mercksche Hefe und die Fermozyltabletten. Zymin erwies sich am sterilsten, wahrscheinlich infolge eines geringen Gehaltes an Azeton. Die verdauende Kraft war am stärksten bei Zymin und Merckscher Trockenhefe, während die übrigen Präparate sich in dieser Richtung als sehr schwach erwiesen. Sämtliche Präparate enthielten noch lebende vermehrungsfähige Hefezellen. Zikes.

Franzen, H. und Stepphuhn, O. Ein Beitrag zur Kenntnis der alkolischen Gärung. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 44, S. 2915.

Wohl hat ähnlich wie früher Buchner die Theorie aufgestellt, daß die Zersetzung des Zuckers bei der alkoholischen Gärung in verschiedenen Phasen erfolgt, wobei mehrere Zwischenprodukte, darunter Milchsäure, entstehen.

Schade ist der Ansicht, daß die Milchsäure zunächst in Ameisensäure und in Azetalhedyd zerfällt, daß sich aus Ameisensäure weiter CO_2 und Wasserstoff bilden und daß letzterer den Azetaldehyd zu Alkohol reduziert. Verfasser haben nun Hefe auf Ameisensäure einwirken lassen, um zu sehen, ob dieselbe tatsächlich weiter abgebaut wird. Sie benutzten als Nährflüssigkeit Würze, welche sie mit der gleichen Menge Wasser verdünnten und dann $^1/_{10}$ Mol ameisensaures Natrium zusetzten. Als Versuchshefen wurden verwendet S. cerevisiae, ellipsoideus, intermedius, validus, Logoshefe, eine Torula usw. Verfasser fanden, daß die Ameisensäure von den meisten Organismen, zum Teil in recht beträchtlichen Mengen vergoren wurde, daß aber viele auch Ameisensäure neu produzierten. Sie sind der Ansicht, daß ein Teil der gebildeten Ameisensäure ihr Entstehen der Zuckerzersetzung verdankt und daß sowohl Vergärung wie Bildung von Ameisensäure als enzymatische Prozesse aufzufassen sind. Zikes.

Herzog, O. und Saladin, O. Über Veränderungen der fermentativen Eigenschaften, welche die Hefezellen bei der Abtötung mit Azeton erleiden. Zeitschr. phys. Chemie 73, S. 263.

Verfasser untersuchten die Vergärbarkeit verschiedener Zucker durch lebende und durch mittels Azeton abgetötete Hefe. Sie bestätigten, daß durch die lebende Hefe Dextrose am schnellsten vergoren wird, dagegen fanden sie bei Dauerhefe die größte Gärfähigkeit gegenüber Lävulose. Dauerhefe vergärt also zum Unterschied von lebender Hefe Fruktose rascher als Glukose und selbstverständlich auch als Mannose. Zikes.

Petit, P. Obergärige Hefe und Acidität. Brass. et Malterie Jahrg. 1911.

Die Phosphorsäure äußert bekanntlich in entsprechender Verdünnung als Waschflüssigkeit für Hefe sehr schätzenswerte Eigenschaften. Sie wirkt antiseptisch, sie verhindert die Schwächung der Hefe in Würze, welche stark eingebraut wurde, sie erhöht den Vergärungsgrad, hebt die Hefeernte und regt die Hefe zu sehr energischer Sprossung an. Verfasser meint, daß die mit Phosphorsäure behandelte Hefe die Säure aufnimmt und daß letztere eine Ausscheidung von Stoffen aus dem Protoplasma in das Bier verhindert, welche gute Nährstoffe für Bakterien darstellen. Zikes.

Bitter, L. Über das Absterben von Bakterien auf den wichtigeren Metallen und Baumaterialien. Zeitschr. f. Hygiene Bd. 69, S. 483.

Verfasser hat zahlreiche Versuche über den Einfluß von Metallen auf an denselben sitzenden Bakterien gemacht und fand bei einzelnen derselben eine erhebliche bakterizide Kraft. Die Reihenfolge der Wirksamkeit ist ungefähr Cu, Messing, Ag, Au, Pb, Fe, Al, Ni, Zn, Sn. Auf allen untersuchten Metallen wurde das Absterben der Mikroorganismen durch ein nachträgliches Anfeuchten wesentlich beschleunigt. Auch Glas erwies sich bakterizid, dagegen bieten verschiedene bei der Bau- und Möbeltischlerei

benutzte Hölzer durchwegs günstige Lebensbedingungen dar. Selbst ein Polieren und Beizen verleiht letzteren Materialien keine dauernd bakterienschädlichen Eigenschaften. Zikes.

Achelme, P. Über Viskosität und enzymatische Wirkungen. Hypothese über die Natur der Enzyme. Compt. rend. de l'Acad. des scienc. 153, 1911, S. 1621.

Verfasser bespricht auf Grund von Kurven, welche er bei seinen früheren Untersuchungen erhalten hatte, die Rolle der Viskosität bei enzymatischen Prozessen und leitet hiervon Gesetze ab, welche unter anderen eine Analogie der Enzymwirkung mit der Wirkung ultravioletter Strahlen erweisen sollen. Zikes.

Achelme, P. und Bresson, M. Über den Einfluß der Viskosität der Flüssigkeit auf die enzymatische Wirkung. Compt. rend. de l'Acad. des scienc. 152, S. 1328.

Um die Viskosität der enzymatisch zu behandelnden Flüssigkeiten zu beeinflussen, wählten Verfasser das Glyzerin. Zur Messung der Viskosität verwendeten sie das Viskosimeter von Gerbert und Demichel und als Vergleichsmoment die Viskosität von destilliertem Wasser. Zuerst wurde die Inversion von Rohrzucker überprüft. Die Invertasewirkung wurde aus der in der Zeiteinheit invertierten Zuckermenge festgestellt. Es ergab sich, daß die enzymatische Wirkung sich im umgekehrten Sinne verhält, wie die Viskosität. Die gleichen Resultate erhielten Verfasser auch bei der Überprüfung der Wirkung des Emulsins, der Diastase, des Trypsins und der Katalasen. In gleich hemmender Weise wie Glyzerin wirkten speziell bei Emulsin und Trypsin auch Rohrzucker und Mannitlösungen. Es scheint demnach zwischen Viskosität und der enzymatischen Wirkung der verschiedenen Katalysatoren eine allgemeine Gesetzmäßigkeit zu bestehen. Zikes.

Mathews, A. P. und Gleim, T. H. Die Zusammensetzung der Invertase. Journ. of Biol. Chem. 9, S. 29—56.

Aus den Resultaten dieser Arbeit geht hervor, daß die Invertase, wie sie gewöhnlich bereitet wird, eine Verbindung eines Proteins mit einem Mannosan ist. Zikes.

Eriksson, A. Über die Hemmung der Invertinwirkung. Zeitschr. f. phys. Chem. Bd. 72, S. 313.

Verfasser studierte die Einwirkung von Kohle auf Invertin. Die Invertinlösung wurde aus Hefe durch Auslaugen mit Wasser erhalten, wobei das in derselben enthaltene Eiweiß durch Kaolin entfernt und dann die Lösung dialysiert wurde. Verfasser konnte durch Kohle eine Hemmung der Invertinwirkung konstatieren. Sie wächst mit der Zeit und nimmt zu mit ansteigender Temperatur. Jedoch ist es nicht gleichgültig, ob die Kohle

schon vorher mit der Enzymlösung in Berührung kam oder erst später dem Reaktionsgemisch (Enzym und Zuckerlösung) zugesetzt wurde. Die Hemmungserscheinungen erwiesen sich im ersteren Falle stets stärker als im letzteren. Verfasser fand in der Invertaselösung selbst auch Hemmungskörper vor, welche durch Erhitzen auf 100° nicht oder nur sehr wenig litten. Zikes.

Michaelis, L. und Davidsohn, H. Die Wirkung der Wasserstoffionen auf das Invertin. Bioch. Zeitschr. Bd. 35, S. 386.

Das Invertin ist ein amphoterer Elektrolyt, dessen Säuredissoziationskonstante 2 : 10—7, dessen Basendissoziationskonstante 11—12 beträgt. Es vermag Rohrzucker nur im nicht dissoziierten Zustand zu spalten, denn weder sein Anion noch sein Kation wirken als Fermente. Zikes.

Bertrand, G. und Compton, A. Über die Einwirkung der Wärme auf das Emulsin. Compt. rend. de l' Acad. des scienc. 153, S. 1518.

Das Emulsin ist nach den Forschungsergebnissen der Verfasser ein Gemisch von zwei Enzymen, der Amygdalase und der Amygdalinase. Erstere spaltet das Amygalin zu Glukose (1 Mol) und Mandelnitrilglykosid, letztere spaltet das Glukosid zu Glukose (1 Mol), Benzaldehyd und Blausäure. Die beiden Enzyme besitzen eine verschiedene Optimaltemperatur ihrer Wirksamkeit. Zikes.

Euler, H. und Johansson, D. Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung und Bildung der Enzyme IV. Arkiv for Kemi, Mineralogi och Geologi Bd. 4, Nr. 23, 1912, S. 1.

Es ist bereits ein alter Erfahrungssatz geworden, daß Mikroorganismen sich an ein neues Nahrungsmaterial erst anpassen müssen, auf welchem sie früher zu wachsen nicht gewohnt waren. Es ist auch vielfach studiert worden, ob die Anpassung mit der Neubildung von Enzymen verknüpft ist. Verfasser haben sich speziell mit der Untersuchung der Geschwindigkeitskonstante der Hefe in bezug auf Anpassung an Galaktose, also mit der Bildungsgeschwindigkeit der Galaktosezymase beschäftigt. Sie kamen zu dem Resultate, daß die Geschwindigkeit der Enzymbildung anfangs verzögert wird, und schließen daraus, daß während dieser ersten Periode erst eine Hemmung beseitigt werden muß, bevor der Katalysator gebildet wird. Sie bezeichnen als Anpassungsgeschwindigkeit diejenige Zeit, welche ein Organismus braucht, um von einem Normalzustand aus die Hälfte der erreichbaren enzymatischen Fähigkeit zu erlangen. Zikes.

Karczag, L. Über die Gärung verschiedener Weinsäuren. Bioch. Zeitschr. 38, 1912, S. 516.

Verfasser hat die verschiedenen sterisch isomeren Weinsäuren auf ihre Vergärung durch lebende Hefe untersucht. Die d-Weinsäure wird zu Anfang

relativ viel stärker vergoren wie die l-Weinsäure. Die razemische Verbindung spaltet in der gleichen Zeit weniger CO_2 ab als die d, aber mehr als die l-Modifikation. Mesoweinsäure verhält sich ähnlich wie die d-Weinsäure. Hefanol vergärt die freien Säuren schwer, dagegen leicht ihre Kaliumverbindung, besonders leicht die der d-Weinsäure. Zikes.

Bertrand, G. und Javillier, M. Kombinierter Einfluß des Zinks und des Mangans auf die Entwicklung des Aspergillus niger. Compt. rend. de l'Acad. des scienc. t. 152, S. 900.

Schon früher hatten die Verfasser gezeigt, daß kleine Mengen von Mangan oder Zink die Vermehrung des Asperg. niger wesentlich begünstigen. Neuerdings untersuchten sie die kombinierten Wirkungen von Zink und Mangan und fanden noch erheblichere Erntegewichte dieses Pilzes als bei Darbietung der einzelnen Verbindungen. Zikes.

v. Höhnel, Fr. Zur Systematik der Sphaeropsideen und Melanconieen. Annales Mycologici Bd. IX, S. 258—265.

Da das von Saccardo aufgestellte, bisher gebräuchliche System der Sphaeropsideen und Melanconieen verschiedene Gebrechen zeigt und, was die Hauptabteilungen anbelangt, den heute bekannten Tatsachen nicht mehr entspricht, hat Verf. auf Grund seiner Studien ein neues Systemsschema für die genannten Pilzgruppen aufgestellt, das alle bekannten Formenkreise umfaßt und daher geeignet ist, alle heute genügend bekannten, hierher gehörigen Formen aufzunehmen.

Mit Rücksicht auf die große Bedeutung dieses neuen Schemas teilen wir dasselbe auf Grund der vorliegenden, vorläufigen Mitteilung in den Grundzügen mit.

I. Pycnidiaceae: Formen mit mehr oder minder typischen Pykniden, deren Konidienträger nicht auf die Basis beschränkt sind.

a) Sphaerioideae: Fleischige, nicht hellgefärbte Pycnidiaceen.

α) Ostiolatae: Deutliche kleine Mündung.

Plectophoma, Microperella, Cicinnobella.

(Hierher gehören nicht: Pyrenotrichum, Piptostomum, ? Ypsilonia, Vermicularia, Dothiopsis, ? Ceuthospora, Phomopsis, Plenodomus, Hypocenia, Harknessia, Levieuxia, Actinonema, Angiopoma, Lichenopsis, Endobotrya, Micula, Eriospora, Septodothideopsis, Diplodiopsis, Epheliopsis.)

β) Astomae: Ohne vorgebildetes Ostiolum. Pykniden öffnen sich durch Zerreißen und werden meist schalen- oder krugförmig.

Sclerotiopsis, Mycogala, ? Pucciniospora, Dothichiza, Agyriellopsis, Psilospora, Dichaenopsis, Taeniophora, Cystotricha.

b) Nectrioideae: Fleischige, hellgefärbte Pycnidiaceen.

α) Ostiolatae: Deutliches, sich nicht weit öffnendes Ostiolum.

Neben den bekannten Formen gehören hierher: Micula, Eriospora, Eleutheromycella, Sirozythiella.

(Nicht hierher gehören: Lemalis, Catinula, Dichlaena, Chaetozythia, Pseudozythia, Hypocreodendron, ? Diplozythia, Pseudostictis.)

β) Astomae: Ohne Ostiolum, schließlich weit aufreißend, sich meist weit öffnend und oft schalen- oder krugförmig werdend.

Sirozythia, ? Eurotiopsis, Stagonopsis, ? Ceuthospora, ? Roumegueriella.

II. Patelloidaceae: Sich schließlich weit schalen- oder schüsselförmig öffnende Formen, bei denen die Sporenträger mehr oder weniger auf die Basis des Fruchtkörpers beschränkt sind, hier ein scheibenförmiges Hymenium bildend.

a) Excipulatae: Fleischige, dunkelfarbige Formen

Neben den bekannten Excipuleen gehören hierher: Acanthothecium, Myxormia, Angiopoma, Hoehneliella, Japonia, Protostegia.

(Hierher gehören nicht: Catinula, Pleococcum, Sporonema, Discella, Scaphidium, Excipularia, Schizothyrella, Pseudopatella.)

b) Patellatae: Fleischige, hellfarbige Formen.

Pyrenotrichum, Hypocreodendron, Catinula, Pseudozythia, Kmetia, ? Diplozythia, Hormodochium, Pseudopatellina, Siroscyphella, Munkia.

III. Pycnothyriaceae: Radiär gebaute, flach schildförmige, inverse, sich an der nach oben gekehrten Basis meist radialrissig öffnende Fruchtkörper. Sporenträger am ganzen Schildchen oder am Rande desselben. (Leptostromaceen Sacc.)

Septothyrella, Sirothyriella, Actinothyrium, Leptothyrella, Asterostomella, Eriothyrium, Trichopeltulum, Diplopeltis.

IV. Stromaceae: Stromatische Formen, mit meist nur einem Konidienlokulus, ohne echte Pykniden.

a) Pachystromaceae: Meist eingewachsene, selten oberflächlich stehende, nicht ganz flache, sondern warzen- oder polsterförmige Stromata, mit meist einem Konidienlokulus.

Phomopsis, Plenodomus, Hypocenia, ? Dothiopsis, Phlyctaena, Oncospora, Sclerophoma, Cyclodomus, Phaeodomus.

(Nicht hierher gehört: Peltistroma.)

b) Leptostromaceae: Eingewachsene, dünne, stets flache Stromata, mit oft nur schwach oder häutig entwickeltem Stromagewebe.

(Hierher gehören nicht: Sacidium, ? Actinothecium, Pirostoma, Discomycopsella, Pseudomelasmia, Holcomyces, Eriothyrium, Trichopeltulum, Leptothyrella, Diplopeltis, Seynesiopsis, Melophia, Auerswaldiopsis, Scirrhiopsis, Diplopeltopsis.)

α) Amphistromaticae: Stroma allseitig entwickelt.

Piggotia, Discella, Myxodiscus, Coleophoma, Leptothyrium, Linochora.

β) Epistromaticae: Stroma nur oberseits entwickelt.

Sporonema phacidioides Desm., Schizothyrella.

γ) Hypostromaticae: Stroma nur unterseits entwickelt.

Labrella Capsici Fr.

V. Melanconiaceae: Konidien in Hohlräumen ohne deutliche, eigene Wandung gebildet. (Nur bei Harknessia Wandung deutlich.)

(Hierher gehören nicht: Hainesia, Bloxamia, Myxormia, Basiascum, Bullaria, Rhopalidium.)

a) Pseudosphaerioideae: Fruchtkörper pyknidenähnlich, aber ohne deutliche eigene Wandung, meist klein, rundlich.

Phleospora, Harknessia, Scolecosporium pr. p.

b) Eumelanconieae: Fruchtkörper unregelmäßig, ausgebreitet, nicht pyknidenähnlich.

Neben den bekannten Melanconieen-Gattungen gehören hierher: Actinonema, Endobotrya, Myxolibertella, Endobotryella, Thyrsidina, Hyperomyxa, Thyrsidiella, Cheiroconium, Lasmenia Balansae Speg., Coniodictyum.

J. Weese, Wien.

Himmelbaur, W. Zur Kenntnis der Phytophtoreen. Jahrb. d. Hamb. wissensch. Anstalten Bd. 28, S. 39—61, 14 Abb. und 1 Taf.

Um die Frage, ob die als Phytophtora Fagi Hart. und Phytophtora Cactorum Lieb. et Cohn beschriebenen, von de Bary unter dem Namen Phytophtora omnivora vereinigten Pilze als verschiedene Arten aufzufassen seien, zu lösen, hat Verf., nachdem die mit Phytophtora Syringae Kleb. und genannten beiden Phytophtora-Arten unternommenen Infektionen von Kakteen zu wenig ausgesprochene Verschiedenheiten zeigten, die drei aufgezählten Pilze in Reinkulturen studiert und zwar unter ganz gleichen Bedingungen.

Durch diese Untersuchungen in Reinkulturen konnte Verf. feststellen, daß Phytophtora Syringae Kleb., Ph. Fagi Hart. und Ph. Cactorum Lieb. et Cohn gute Arten darstellen, die sich durch deutliche morphologische

Merkmale im Gesamthabitus und im Myzel- und Sporangienbau unterscheiden. Phytophtora omnivora de Bary ist als Art aufzugeben.

Verf. konstatierte auch, daß in alternden Agarkulturen die drei Pilze „phylogenetische Anklänge“ an die Syphonales bezw. Vaucheriaceen zeigen.

Die Zonenbildung bei Phytophtora Syringae Kleb. dürfte auf Temperaturschwankungen zurückzuführen sein. J. Weese, Wien.

Eriksson, Jakob. Über Exosporium Ulmi n. sp. als Erreger von Zweigbrand an jungen Ulmenpflanzen. Mycol. Centralbl. 1912, 1. Bd., S. 35—42, 1 Taf.

Verf. berichtet über eine Erkrankung von jungen Pflanzen von Ulmus montana, U. m. exoniensis, U. campestris und U. effusa, die sich dadurch äußert, daß kranke Pflanzen tote oder absterbende Zweigspitzen oder ganze Zweige zeigten und bei zahlreichen Individuen namentlich bei kleineren der Tod herbeigeführt wird. Die Ursache dieser Krankheit stellt nach den Untersuchungen des Verf. ein Pilz dar, der an den toten Zweigen und hauptsächlich an den Verästelungsstellen der Zweige zu finden ist und den der Verf. zu der Familie der Tubercularieae Dematiae Sacc. in die Gattung Exosporium Link stellt und als Exosporium Ulmi Eriks. nov. spec. beschreibt.

Durch die angestellten Infektionsversuche stellte Verf. fest, daß Exosporium Ulmi Eriks. und nicht der Frost der Krankheitserreger sei, und daß der Pilz die zarten grünen, im Frühling herauswachsenden Jahrestriebe zuerst infiziert, an deren rauher Oberfläche die leicht keimenden Konidien massenhaft anhaften. Nach der Infektion lebt der Pilz im Innern des Triebes, bis er im nächsten Frühling mit den offenen Konidienpusteln hervortritt. Der junge Zweig ist zu dieser Zeit entweder ganz oder teilweise abgestorben.

Da man im zweiten Frühling fast ausnahmslos an den toten Zweigen rote Nectria-Warzen findet, so hält es Verf. für möglich, daß diese Warzen ein Fortsetzungsstadium des Konidienpilzes sind.

Durch das Studium zahlreicher Krankheitsfälle an älteren Zweigen ist der Verf. zu der Ansicht gekommen, daß der kleine Seitenast der von außen infizierte Ast ist und daß der Pilz von diesem Ast in den älteren Hauptast hinunter gewachsen ist.

Zum Schluß gibt Verf. einige Winke zur Bekämpfung der Krankheit.

J. Weese, Wien.

Zikes, H. Zur Überprüfung von Bierfilterstoffen. Zeitschr. f. das ges. Brauw., Bd. XXXV, 1912, Nr. 18/19.

Verf. bespricht in einer größeren Arbeit die verschiedenen Arten der Bierfilteruntersuchung wie die mikroskopische Analyse, die mikrochemische Analyse, die Aschebestimmung, die Wasserbestimmung, die Verteilungsfähigkeit der Filtermasse in Wasser, die Filtrationskraft usw. usw. und wendet

sich schließlich auch der biologischen Untersuchung von Filtermassen zu. Diesem Teile der Arbeit ist folgendes zu entnehmen:

Verf. empfiehlt Proben des unfiltrierten und filtrierten Bieres (von letzterem mehrere Proben) aus den Filterapparaten zu entnehmen. Im letzteren Falle hätte die erste Probe die zuerst durch das Filter gehenden Bieranteile zu enthalten, die zweite und dritte würde ein Äquivalent der nach 15 Minuten event. nach einer Stunde durch das Filter gegangenen Bieranteile vorstellen. Von diesen Proben könnten die Lindnersche Tropfenkultur unter Benutzung von Würze und Plattenkulturen unter Verwendung von Bier- und Würzegelatine angefertigt werden. Bei der direkten Prüfung der Filtermasse empfiehlt Verf., dieselbe in kleine Fragmente zu zerreißen und diese auf Würze und Bierkölbchen (am zweckmäßigsten je 10 Stück) zu verteilen, wo aus der Zerstörung der Medien auf den biologischen Bestand der Filtermasse Rückschlüsse gezogen werden können. Die Filtermasse vor der Untersuchung in sterilem Wasser aufzuschlemmen und das Waschwasser zu untersuchen, also eine Art quantitative Analyse vorzunehmen, hält Verf. gleich Prof. Will für nicht entsprechend, da oft ziemlich viele Keime von der Filtermasse zurückgehalten werden und nicht in das Wasser trotz kräftigem Schütteln gelangen. Autoreferat.

Zikes, H. Über das Verhalten von Leuchtbakterien in Würze und Bier. Allg. Zeitschr. f. Bier- u. Malzf., Bd. 40, 1912, S. 73.

Verf. wählte, um die Frage zu prüfen, ob sich auch Würze und Bier unter Zusatz von Kochsalz zur Aufzucht von Leuchtbakterien eignen, zwei Leuchtbakterienarten, welche sich in bezug auf Nahrungsanspruch auf das äußerste voneinander unterscheiden — das auf Rindfleisch gedeihende Bacterium phosphoreum und die auf Seefischfleisch wachsende Pseudomonas lucifera. Aus seinen Versuchen geht hervor, daß sich die Zwischen- und Endprodukte der Bierherstellung nicht zur Aufzucht von Leuchtbakterien eignen, selbst dann nicht, wenn der Nährboden durch Neutralisation und Zusatz von Salz möglichst für die Bedürfnisse derselben abgestimmt wurde. Autoreferat.

Franzen, H. Die Bildung und Vergärung von Ameisensäure durch Hefe. The Brewer and Malster, Vol. XXXI, 1912, S. 32.

Wohl nahm bei der Vergärung von Zucker zu Alkohol und CO_2 die Bildung von mehreren Zwischenprodukten, namentlich von Milchsäure an. Schade hat die Wohlsche Zerfallstheorie erweitert, indem er annahm, daß auch der letzte Vorgang, der Zerfall der Milchsäure in Alkohol und CO_2 sich wieder aus Teilvorgängen zusammensetze. Schade glaubte, daß Oxysäuren sich verhältnismäßig leicht in einen Aldehyd und Ameisensäure spalten lassen, daß dann aus der Ameisensäure CO_2 und H entstehen, und daß letzterer den Azetaldehyd zu Äthylalkohol reduziert. Tatsächlich ist es Schade gelungen, den zweiten Teil des Vorganges, die Reduktion von Azet-

aldehyd durch Ameisensäure unter Zuhilfenahme von Radium als Katalysator durchzuführen. Verf. hat es nun mit O. Steppuhn unternommen, das Verhalten von Hefen gegenüber Ameisensäure zu untersuchen und gefunden, daß Ameisensäure vergoren wird, daß aber auch Ameisensäure bei der Vergärung von Würze entsteht. Verf. waren auch bestrebt, durch folgende Überlegung die Wohlsche Theorie mit der Buchnerschen Beobachtung, welcher jetzt weder Milchsäure noch Methylglyoxal (beide können durch Hefe nicht vergoren werden), sondern Dioxyazeton als Zwischenprodukt annimmt, in Einklang zu bringen. Zur Überführung des Zuckers in Alkohol und CO_2 sind nach ihrer Ansicht mehrere Enzyme vorhanden, die kurz mit 1, 2, 3 bezeichnet werden sollen. Geht man vom Dioxyazeton aus, so lagert sich an dieses zunächst ein Molekül Enzym 1 an; belastet mit diesem Enzym erfolgt zunächst der Übergang des Dioxyazetons in Glyzerinaldehyd. Hierbei wird aber nicht sofort das Enzym abgespalten und freier Glyzerinaldehyd gebildet, sondern es entsteht ein Glyzerinaldehydderivat des Enzyms 1. Zur Verwandlung des Glyzerinaldehyds in Methylglyoxal ist ein Enzym 2 vorhanden. Es lagert sich an das Enzymderivat des Glyzerinaldehyds an und nun erfolgt die Umlagerung in ein Methylglyoxalderivat von Enzym 1 und 2. Nun lagert sich ein Enzym 3 an, worauf Umlagerung in ein Milchsäurederivat von Enzym 1, 2, 3 erfolgt. Ist die Reaktion soweit gediehen, so tritt Spaltung ein, aber auch nicht in freien Azetaldehyd und freie Ameisensäure, sondern in Enzymderivate dieser Körper, welche dann weiter miteinander reagieren, bis schließlich wieder die freien Enzyme und Alkohol und CO_2 auftreten. Zikes.

Schlesinger, J. Ein weiterer Beitrag zur biologischen Untersuchung für Brauwasser. Allg. Zeitschr. f. Bierbr. u. Malzf., Bd. 39, S. 474.

Verf. hat schon früher eine neue Wasseruntersuchungsmethode ausgearbeitet, welche die alten Methoden von Wichmann und Hansen, die oft in ihren Zahlen sehr voneinander abweichende Resultate ergaben, ersetzen soll. In vorliegender Arbeit hat er wieder eine große Zahl Wässer nach allen drei Verfahren überprüft. Bei kritischer Gegenüberstellung der Resultate ergab sich zufolge der stärkeren Verunreinigung der Wässer eine erhöhte Übereinstimmung der Resultate. So ergaben für Bierwürze nach allen drei Methoden 65 % der Resultate vergleichbare Werte, gegenüber 50 % der im Frühjahr zur Untersuchung gelangten Wässer, während weitere 25 % nach den Resultaten der Methode des Verf. für die Hansenschen und 8 % für die Wichmannschen Ergebnisse sprachen. Auch für Bier kommt er zu ähnlichen Zahlen. Zikes.

Santmann, H. Zum Nachweis von Kahmhefe in der Preßhefe. Brau- u. Malzindustrie, Bd. XIII, 1912, Nr. 10.

Verf. weist auf die Wichtigkeit der Kahmhefebestimmung in Preßhefe hin. Er empfiehlt folgende Methoden. 1. Man bringt (nach Henneberg)

ein erbsengroßes Stück der Preßhefe in ein kleines Fläschchen mit past. Bier oder mit past. Würze, der einige Tropfen Alkohol zugesetzt wurden. Bei 25—30° entwickelt etwa vorhandene Kahmhefe sehr rasch eine Haut. 2. Man preßt die zu untersuchende Preßhefe (Henneberg) $^1/_2$ cm hoch in Petrischalen ein, verstreicht die Oberfläche möglichst glatt und stellt die Probe bei 30—38° in den Thermostaten. Nach 48 Stunden sieht man auf der Oberfläche, wenn Kahmhefe vorhanden ist, weiße, trockene, halbkugelige Kahmhefekolonien. Santmann empfiehlt an Stelle des Einpressens der Hefe, dieselbe mittels Blumendrahtes in Prismen zu zerschneiden und die Schnittflächen zu beobachten. 3. Man legt sich von der zu untersuchenden Preßhefe Suspensionen in Wasser und Würze an und gießt in entsprechender Weise Bier- und Würzegelatine bezw. Agarplatten. Sehr zu empfehlen ist nach Santmanns Ansicht auch der von Holm empfohlene Nährboden, aus ungehopfter Bierwürze mit 5 $^0/_0$ Gelatine oder 0,5 $^0/_0$ Agar bestehend. 4. Es werden in verschiedener Verdünnung Tröpfchenkulturen nach Lindner angelegt. Am besten geeignet fand Santmann Tröpfchenkulturen mit dichter Einsaat, bei 27° gehalten, wo die Wachstumsunterschiede zwischen Kulturhefe und Kahmhefe ganz besonders deutlich in die Erscheinung traten, auch konnte er konstatieren, daß es bei dieser Kulturanstellung nur zu einer Vermehrung von Kahmhefe kommt. Zikes.

Santmann, A. Über den Nachweis von Biersarcina in Bier, Bierwürze, Wasser und Luft. Brau- u. Malzindustrie, Bd. XIII, Nr. 9, 1912, S. 165.

Verf. gibt für die gegenwärtige Untersuchung von Biersarcina in Bier, Bierwürze, Wasser und Luft folgende Methodik an: 1. Für den Nachweis von Sarcina in Bier ist die unter Luftabschluß bei 25° C durchgeführte Forcierprobe eine einfache und sichere Methode. Spezielle Nährlösungen sind Bettgeslösung und ammoniakalisches Hefewasser, 2. Für den Nachweis von Sarcina in Bierwürze, Wasser und Luft ist in erster Linie die neue Methode von Stockhausen anzuwenden. 3. Für den Nachweis von Biersarcina in Wasser und Luft kann auch die ältere Methode der direkten Übertragung des Wassers in Bettgeslösung benutzt werden. Zikes.

Bokorny, Th. Mikrochemischer Nachweis des Kaliums in Hefen und anderen Zellen. Bedeutung des Kaliums. Allg. Brauer- u. Hopfenztg., Bd. 52, 1912, S. 113.

Verf. benutzte zum Kaliumnachweis in Hefen eine Natriumkobaltnitritlösung, also eine Modifikation der Macallumschen Lösung, welche aus Natriumkobaltchlorid besteht. Der Nachweis erfolgt in der Weise, daß man die Hefezellen in die Lösung, die auf etwa + 4° abgekühlt wird, durch $^1/_2$ Stunde bringt. Überall wo sich Kalium befindet, bildet sich das Kaliumnatriumdoppelsalz, welches durch eine chromgelbe Farbe ausgezeichnet ist. Man kann auch nachträglich das Präparat noch mit Schwefelammonium behandeln, wodurch dann das intensiv schwarz gefärbte Kobaltsulfid entsteht.

Verf. sah, daß in der Hefe eine besondere Verteilung des Kaliums nicht vorhanden ist, nur im Zellsaft konnte eine stärkere Lokalisation beobachtet werden. Zikes.

Euler, H. Zur Nomenklatur der Enzyme. Zeitschr. f. phys. Chem., Bd. 174, S. 13.

Nach Lippmanns Vorschlag werden die Namen der Enzyme bekanntlich nach dem Ausgangsprodukt und dem Endprodukt der Zersetzung gewählt, z. B. wird von Buchner das Enzym, welches Glukose in Essigsäure verwandelt, Glukazetase genannt. In neuerer Zeit sind nun verschiedene synthetisierende Enzyme aufgefunden worden, wie z. B. jenes Enzym, welches Phosphorsäureester mit Kohlehydraten synthetisiert. Für die Benennung dieser Enzyme ergeben sich im Rahmen der jetzigen Nomenklatur Schwierigkeiten. Verf. schlägt daher vor, für diese Enzyme die Endsilbe „ese" zu wählen und das Enzym nach jenem Stoff zu benennen, welchen es synthetisiert. Es wäre demnach jenes Enzym, welches organischen Phosphorester liefert, mit Phosphatese zu bezeichnen. Zikes.

Hanzawa, Ina. Über eine einfachere Methode der Sporenfärbung. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 34, 1912, S. 172.

Verf. hat mit seinem Schüler Ariizumi eine neue Sporenfärbungsmethode ausgearbeitet, die im wesentlichen aus folgendem besteht:

1. Fixieren der sporentragenden Mikroorganismen auf dem Deckglas. 2. Eintauchen des Präparates durch 1—3 Minuten in Gramsche Lösung. 3. Eintauchen des Präparates in Alkohol 1 Minute lang und Waschen desselben. 4. Färben mit der Farbstofflösung. Bei Verwendung von Methylenblaulösung 30 Sekunden Einwirkungszeit; bei Verwendung von Karbolfuchsin durch 1 Minute bei schwacher Erwärmung; Anilinwasserfuchsin 2 Minuten lang, Anilinwassergentianaviolett 3 Minuten lang, beide unter Erwärmung. 5. Wenn Doppelfärbung gewünscht wird, braucht man, bei vorheriger Behandlung mit Karbolfuchsin oder Anilinwasserfuchsin, Methylenblaulösung, ohne jedoch das Präparat zu erwärmen, zur Einwirkung etwa 10 Sekunden. Hat man mit Annilinwassergentianaviolett gefärbt, dann erwärmt man das Präparat in Bismarckbraunlösung etwa eine halbe Minute lang. 6. Auswaschen des Präparates. Zikes.

Schnegg, Hans. Eine neue Wurzelerkrankung des Grünmalzes. Ein merkwürdiger Fall von Parasitismus durch Rhizopus nigricans (Mucor stolonifer). Zeitschr. f. das ges. Brauwesen, Bd. 35, 1912, Nr. 1 u. 2.

Verfasser, welcher schon vor einigen Jahren eine durch ein Bakterium der Coligruppe verursachte Erkrankung der Wurzelkeime des Grünmalzes beschrieben hatte, die sich zunächst in einem Braunwerden der befallenen Wurzelpartien zu erkennen gibt, das sich schließlich auf die ganzen Wurzeln

ausdehnt und sie in verhältnismäßig kurzer Zeit zum Absterben bringt, fand neuerlich, daß eine ähnliche Erkrankung der Wurzelkeime auch von dem bekannten Schimmelpilz Rhizopus nigricans (Mucor stolonifer) hervorgerufen wird. Es ist das jener Schimmelpilz, der sich auf keimenden, namentlich durch Drusch verletzten Gerstenkörnern vorfindet, außerdem aber auch als Parasit beobachtet worden ist und als solcher zu den verbreitetsten Fäulniserregern des Obstes zählt.

Schnegg stellt durch genaue Untersuchung der erkrankten Wurzelkeime fest, daß hier Parasitismus vorliegt, der ähnliche Erscheinungen hervorruft, wie sie bei der Fäulnis des Obstes auftreten und stellte fest, daß die Pilzfäden ihren Weg durch die Epidermis von außen suchen und, der Mittellamelle folgend, in das Innere der Zellen gelangen, wo sich der Pilz weiter entwickelt und ausbreitet.

Die Einwirkung des Pilzes auf die infizierten Intercellularräume benachbarter Zellen gibt sich durch eine gelbbraune bis intensive Braunfärbung ihrer Wand zu erkennen und der Inhalt zeigt durch Plasmolyse die Folgen der Pilzwirkung und damit deren Tod an, der durch ein von dem Pilz ausgeschiedenes Gift, das Veränderungen der Zellmembran bewirkt und durch Diffusion ins Innere gelangt, veranlaßt wird.

Durch Untersuchung an Schnitten von 3—4 Tage alten Keimlingen wurde die schon in den jungen Keimstadien beobachtete Tendenz der Mycelfäden, in die zwischen Wurzeln und Wurzelscheide bei der Keimung entstehenden Hohlräume hineinzuwachsen, deutlich bestätigt. Dieser Vorgang wird durch die im Innern des Keimlings vorhandene höhere Temperatur und Feuchtigkeit im hohen Maße begünstigt, doch bleibt, ebenso wie bei der vom Verfasser früher beschriebenen Bakterienkrankheit, das Eindringen des Pilzes auf das Rindengewebe beschränkt und wurde ein Eindringen des Pilzes in das Zellinnere niemals beobachtet.

Die Begleiterscheinungen, welche beim Absterben der Wurzeln auftreten, sind dieselben wie bei der seinerzeit beschriebenen Bakterienkrankheit, zu welcher im vorliegenden Falle noch der fördernde Einfluß der bei pilzbefallenen Grünmalzhaufen konstatierten starken Temperaturerhöhung hinzukommt. Auch läßt die Auflösung der befallenen Körner entgegen der durch Bakterien erzeugten Erkrankung des Grünmalzes sehr zu wünschen übrig.

Als Ursache der Krankheit betrachtet Verfasser die Tenne, als wesentliche Bedingung für das Zustandekommen zu starke Weiche.

Die Infektion ist eine sekundäre, da sich der Pilz im ungekeimten Korn nicht nachweisen läßt und die Krankheit erst in die Erscheinung tritt, wenn die Wurzelkeime eine bestimmte Länge erreicht haben.

Als Verhütungsmaßregel wird ein Zusatz von Kalk zum Weichwasser empfohlen.

Prior.

Will, H. und Beyersdorfer, P. Ozon als Desinfektionsmittel. Zeitschr. f. das ges. Brauwesen, Bd. 35, 1912, Nr. 7 und 8.

H. Will hatte schon vor zwei Jahren die Resultate von Versuchen im Laboratorium über die Einwirkung von Ozon auf Organismen, welche für den Brauereibetrieb in Betracht kommen, bekannt gegeben.

Nun hat derselbe in Gemeinschaft mit Beyersdorfer mit einem von der Aktiengesellschaft für Ozonverwertung in Stuttgart zur Verfügung gestellten, dafür eigens konstruierten Apparat auch Versuche in der Praxis durchgeführt. Was die Leistungsfähigkeit des Apparates betrifft, gelang es, mit demselben die Luft mit Ozon bis zu 1 Gramm im Kubikmeter anzureichern, wobei die Geschwindigkeit, mit der die Luft das Röhrensystem des Ozonisators durchströmt, auf ein Minimum reduziert wird: die Anreicherung erfolgt also auf Kosten der Strömungsgeschwindigkeit, doch ist die Ozonkonzentration der Strömungsgeschwindigkeit nicht umgekehrt proportional, da die Zunahme der Ozonkonzentration eine unverhältnismäßig größere Stromgeschwindigkeit erfordert.

Nach den früheren Versuchen handelt es sich für die Praxis um einen Ozongehalt der Luft von 0,6—0,7 g pro Kubikmeter, da der Infektionsherd in der Zeiteinheit mit möglichst viel Ozon in Berührung gebracht werden soll.

Zur Feststellung des Effektes wurde die Ozonkonzentration der Luft bei verschiedenen Höhenstellungen nach E. P. Treadwell bestimmt. Die in einer Tabelle und in graphischer Darstellung niedergelegten Resultate mögen aus der Originalabhandlung ersehen werden, ebenso Art und Behandlung des Apparates, die für den Erhalt gleichmäßiger und zuverlässiger Arbeit wichtig sind.

Die Versuche selbst erstrecken sich auf die Desinfektion von Rohrleitungen, Transportfässern und Filtermasse und verweise ich bezüglich ihrer Durchführung auf die Originalabhandlung. Bei der Benutzung des Desinfektionsmittels bei Rohrleitungen wurden in Würze frisch gezüchtete, mit sterilem Leitungswasser abgeschlemmte Kulturen von Sacch. Pastorianus, Sacchar. turbidans, Mykoderma und Willia anomala, sowie ein mit Sarcina infizierter Bierbodensatz verwendet, während zu den Faßversuchen Fässer, wie sie im Betrieb anfallen, und zur Desinfektion der Filtermasse ebenfalls im Betrieb bereits benutzte Masse Verwendung fanden.

Die Resultate ihrer Versuche und die sich daraus ergebenden Schlußfolgerungen fassen die Verfasser in folgenden Sätzen zusammen:

1. Rohrleitungen können durch Einleiten von ozonisierter Luft, wie sie jetzt zur Verfügung steht, nicht sterilisiert werden, da die Rohre und die ihrer Wandung anhaftenden Organismen, mindestens teilweise, ausgetrocknet werden. Trockene Organismen widerstehen aber der Einwirkung des Ozons. Möglicherweise gelingt eine Sterilisierung durch gleichzeitiges Einleiten von kalter feuchter Luft mit der ozonisierten, durch eine Art ozonisierten Nebels. Bei der geringen Tiefenwirkung des Ozons bleibt der

Erfolg auch in diesem Falle zweifelhaft, wenn Flanschen mit Dichtungen, die sich zu Infektionsherden ausgebildet haben, vorhanden sind.

2. Filtermasse kann mit Ozon nicht sterilisiert werden, da sie zersetzend auf Ozon wirkt.

3. Gepichte Transportfässer, deren Innenwandung nicht überall glatt ist, sind durch Ozon nicht keimfrei zu machen. Das Pech scheint in diesem Fall einen ähnlichen Einfluß auf das Ozon auszuüben wie Filtermasse. Beim Einleiten von ozonisierter Luft dürften daneben noch die gleichen Erscheinungen wie bei dem Einleiten in Rohrleitungen zur Geltung kommen.

Die Verfasser machen zum Schluß darauf aufmerksam, daß ihre Erfahrungen bei der Anwendung von Ozon als Desinfektionsmittel für Leitungen, Filtermassen und Geräte in diametralem Gegensatze zu jenen stehen, welche L. v. Vetter und E. Moufang in der Brauerei Th. Boch & Co. in Lutterbach gemacht und in der Wochenschrift für Brauerei 1911, Bd. 28, Seite 13 mitgeteilt haben.

Es wird daher von den Verfassern empfohlen, solange die dargelegten Widersprüche nicht gelöst sind und durch einwandfreie Kontrollversuche völlige Klarheit geschaffen ist, mit der Verwendung von Ozon als Desinfektionsmittel für Leitungen und Geräte im Brauereibetrieb noch zu warten.

H. Will berichtet zum Schlusse noch über einige Versuche, welche er behufs Sterilisierung von Wasser zur Reinigung in der Brauerei mit Ozon angestellt hat. Dieselben ergaben, daß die Frage der Sterilisierung des Wassers mit Ozon hinsichtlich der Bakterien gelöst ist, jedoch hinsichtlich der Abtötung von Hefenzellen noch keine Übereinstimmung bestehe.

In seinen zuletzt angeführten Versuchen, die zu Ende geführt werden sollen, bei welchen dem durch Ozon in der Sterilisierungsanlage, System Siemens-de Frise, zu reinigenden Wasser verhältnismäßig große Mengen von Bierhefe zugesetzt wurden, erzielte Will unter Einhaltung bestimmter Bedingungen hinsichtlich der Abtötung der in Wasser gut verteilten Hefezellen sehr günstige Ergebnisse und hält dafür, daß die Sterilisierung von Wasser zu Reiniguugszwecken in den Brauereien als bezüglich der Hefen günstig gelöst werden wird. Prior.

Ando, Kazuo. On red Yeasts. Original Communications. 8th international Congress of applied Chemistry. Washington and New York (Section VI B: Fermentation), Vol. XIV, 1912.

Verf. fand öfters rote Torulahefen teils im „Moto“, teils bei Luftanalysen in einer Sake-Brauerei (Nada, Japan) und in einem gärungschemischen Laboratorium (Tokio). Zwei Arten, deren Kolonien verschieden sind, wurden beschrieben. Auf Koji-Extrakt bilden sie eine Haut, die leicht nach unten sinkt; bei der Art A. ist sie dünn, und beim Schütteln wird die Flüssigkeit trübe, bei B. dagegen ist sie dick und gibt beim Schütteln keine Trübung. Die Strichkulturen sind auch verschieden. Die gewöhnlichen Zuckerarten

sowie Dextrin und Inulin wurden nicht vergoren (P. Lindners Kleingärmethode wurde benutzt). Chlornatrium (6 %), der Hayduckschen Lösung zugesetzt, hindert die Entwicklung, ebenso Essigsäure (0,5 %); dagegen wachsen die Zellen gut in einer Lösung mit bis 6 % Alkohol; in Haydncks Lösung mit 5 % Kartoffelstärke tritt keine Entwicklung ein. Mit Sake-Hefe vermischt wachsen beide Arten sehr gut. Beide bilden geringe Mengen von Säure; Inversion findet statt. Bei einer Temperatur von 13—15° C auf Nährgelatine (15 %) gezüchtet, wird diese im Laufe von 7 Tagen von A. verflüssigt, von B. dagegen nicht. Die Temperatur hat hier einen Einfluß, bei 20° C wurde nämlich die Gelatine auch von B. verflüssigt.

Die Zellen sind klein und oval, A. bildet ein Promyzel und größere runde Zellen in älteren Kulturen. Keine Sporenbildung. Die rote Farbe wird sowohl im Dunkeln als bei Tageslicht gebildet. Wenn Formalin den roten Riesenkolonien zugesetzt wurde, erschienen diese im Laufe von 24 Stunden vollständig entfärbt; Verf. schließt hieraus, daß die rote Farbe als ein Anzeichen des Lebens betrachtet werden muß. Die Farbe ist im Wasser unlöslich, löst sich dagegen im Alkohol auf. Wenn diese Lösung mit Schwefelkohlenstoff geschüttelt wird, nimmt dieser die Farbe auf. Die alkoholische Lösung wird von konz. Salzsäure oder von Natronlauge entfärbt; Essigsäure hat dagegen keinen Einfluß auf die Farbe.

Diese zwei Torulahefen spielen keine Rolle in den Sake-Brauereien, weil sie sowohl vom Alkohol als auch von der Säurebildung im Sake in ihrer Entwicklung gehemmt werden.

Die Mitteilung enthält 16 photographische Wiedergaben.

Just. Chr. Holm.

Savamura, S. On Bacillus Natto. Original Communications. 8th international Congress of applied Chemistry. Washington and New York (Section VI B: Fermentation), Vol. XIV, 1912.

Natto ist ein Nahrungsmittel, welches hergestellt wird, indem gekochte Soyabohnen, in Reisstroh eingepackt, über Nacht warm gehalten werden, so daß eine Gärung entsteht. Verf. hat früher aus Natto zwei Bazillen isoliert, von welchen Nr. 1 auf gekochte Bohnen überführt Natto mit gutem Aroma gab, während mit Nr. 2 Natto stark schleimig wurde. Der erstere ist der eigentliche Erreger der Nattogärung (Bacillus Natto). Der Bazillus ist 2—3 μ lang, 1 μ breit, mit abgerundeten Enden und kommt zu zweien oder in Ketten vor. Er ist beweglich, bildet Sporen, ist Gram-negativ, Aerobiont. Auf Bouillon bildet er einen hellbraunen, dünnen, trockenen und mehligen Schaum, auf Kartoffeln graue, schleimige Kolonien, die wie diejenigen des Kartoffelbazillus aussehen. Auf Agar bildet er hellbraune Kolonien. Die Nährgelatine wird verflüssigt. In Glukose-Bouillon entsteht keine Gasbildung. Er entwickelt keinen Schwefelwasserstoff und gibt keine Indolreaktion. Er produziert ein trypsinähnliches Enzym und baut das Protein der Soyabohnen ab. Wie das Eiweiß abgebaut wird, wurde näher untersucht und die Mengen

von Stickstoff in verschiedenen Formen (als Gesamtstickstoff, unlöslicher und löslicher Albuminstickstoff, Stickstoff aus Pepton, aus Asparagin usw.) sowie die lösliche organische Substanz wurden bestimmt.

Die Soyabohnen enthalten den Stickstoff hauptsächlich in Form von Protein (85—90 %); Nicht-Eiweißstickstoff kommt nur in geringen Mengen (10—15 %) vor. Bacillus Natto erzeugt Diastase; doch wurde reduzierender Zucker in Natto nicht gefunden. Die Bohnen enthalten nämlich nur wenig Stärke; die Hauptmenge der Kohlenhydrate besteht wesentlich aus Galaktan, weshalb die gebildete kleine Glukosemenge von dem Bazillus wieder zersetzt wird. Just. Chr. Holm.

Kita, G. Haupthefe der Soyamaische. Original Communications. 8th international Congress of applied Chemistry. Washington and New York (Section VI B: Fermentation), Vol. XIV, 1912, S. 99.

Bei der Soyabereitung spielt die Alkoholgärung neben diastatischen proteolytischen und säureproduzierenden Einwirkungen eine wichtige Rolle. Der aus Stärke gebildete Zucker wird in Alkohol zerlegt, der sich weiter in Ester verwandelt, um einen Bestandteil des Soya-Aroma zu bilden. Saito hat einen Saccharomyces Soya als Hauptgärungserreger beschrieben (Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 17, S. 104 u. 152). Dieser wurde von Kita nicht gefunden, es trat vielmehr eine Torula-Art auf, deren Zellen rund oder elliptisch sind. Die Hefe vergärt Glukose und Maltose, nicht aber Galaktose, Saccharose, Raffinose und Arabinose. Nach Zerreiben der Zellen ist jedoch Invertase nachzuweisen. Im Kojidekokt mit 5—10 % Kochsalz gärt die Hefe sehr gut; besonders im Anfang der Gärung wird die Gärkraft durch Kochsalz gefördert; kleine Alkoholmengen fördern auch die Gärung im Anfang, aber nicht zum Schluß. Eine wiederholte Kultur der Hefe in Würze ohne Salz verringert nicht ihre Gärkraft in gesalzener Würze; die Gärkraft in Würze ohne Salz wird aber durch die wiederholte Kultur in Salzlösung verstärkt. Just. Chr. Holm.

Winther, H. The Bacillus viscosus. Its action on American beer and Ale Worts, before, during, and after their alcoholic fermentation. Original communications. 8th international Congress of applied Chemistry. Washington and New York (Section VI B: Fermentation), Vol. XIV, 1912, S. 231.

Verf. hat die nachfolgenden Untersuchungen gemacht, weil es in Amerika behauptet wurde, daß bei Verwendung von Weizen- und Hafermalz neben Gerstenmalz die daraus erzeugten Biere sich trüben, indem gewisse Bakterien — besonders die, welche ein Schleimigwerden („Ropiness“) hervorrufen — sich entwickeln, wie es in Europa bei gewissen Bieren der Fall ist, für welche Weizen in Anwendung kommt (das Berliner Weißbier, die belgischen Lambic und Faro).

Die Versuche, welche zum Ziel hatten, die zwei Fragen zu beantworten: 1. Sind es die Stickstoffverbindungen oder die Kohlenhydrate der Würze, welche von schleimbildenden Bakterien bevorzugt und am leichtesten angegriffen werden, und 2. wie ist die Wirkung dieser Bakterien zu regulieren bezw. vollständig zu vernichten, wurden mit Reinkulturen von Bacillus viscosus Bruxellensis (v. Laer) angestellt; als Nährmedium wurden Würze und Bier benutzt. Erst wurde das Verhalten des Bac. viscosus verschiedenen Zuckerarten gegenüber (10prozentige Lösung in destill. Wasser) geprüft. Lävulose, Laktose, d-Mannose und Dextrin zeigten Viskosität; Dextrose, Saccharose, Maltose und Raffinose dagegen nicht. Dann wurden Versuche mit Bac. viscosus gegenüber wässerigen Lösungen von Asparagin, Pepton, Ammoniumphosphat, Ammoniumtartrat, Ammoniumnitrat und Hefewasser angestellt; drei von diesen Lösungen: Hefewasser, Asparaginlösung und Peptonlösung wurden schleimig, die unorganischen dagegen nicht. Wenn aber die Lösungen von Dextrose, Saccharose, Maltose und Raffinose mit Ammoniumphosphat (0,5 $^0/_0$) sowie mit kleinen Mengen von Bac. viscosus versetzt wurden, wurden sie alle schleimig. Aus diesen Versuchen schließt Verf., daß der Bac. viscosus Laktase, nicht aber Invertase oder Maltase enthält; er kann deshalb Saccharose, Raffinose und Maltose nicht angreifen und greift auch Dextrose nicht an. Der obengenannte Fall, bei welchem Ammoniumphosphat, gewissen Zuckerlösungen zugefügt, Schleimbildung in diesen hervorrief, während sie ohne diesen Zusatz nicht viskos wurden, wird in der Weise erklärt, daß die Viskosität auf die Leichtigkeit zurückzuführen ist, mit welcher die Mikroorganismen unter gewissen Umständen die für ihre Ernährung notwendigen Enzyme bilden; ist diese Annahme richtig, resultiert daraus, daß in einer normalen Würze der Bazillus keine Auswahl trifft: alle Kohlenhydrate und die meisten Stickstoffkörper können an der Bildung der Viskosität teilnehmen. Eine Zunahme in der Würze an Dextrinen und Maltodextrinen gab eine erhöhte Viskosität, während eine Würze mit einer größeren Menge von Stickstoffverbindungen geringere Viskosität zeigte. Mit Rücksicht auf den Einfluß des Alkohols ergab es sich, daß eine Würze (aus Gersten- und Weizenmalz), welche bis 3 $^0/_0$ Alkohol enthielt, schleimig wurde, während eine Würze mit mehr als 3 $^0/_0$ zwar eine Entwicklung von Bac. viscosus, aber keine Viskosität zeigte. Bier, welches bis 2 $^0/_0$ Alkohol enthielt, wurde schleimig; Bier mit 2,4 $^0/_0$ zeigte Bakterienentwicklung aber keine Schleimbildung, und in einem Biere mit 3 $^0/_0$ Alkohol fand weder Entwicklung noch Viskosität statt. Niedrige Temperaturen wirken hemmend auf die Entwicklung und Wirkung der Bakterien, beide fangen bei 3^0 C an. Schließlich wurde nachgewiesen, daß die Zusammensetzung der Würze (besonders ihre Säuremenge), die Menge der Anstellhefe und die Temperaturen im Gär- und Lagerkeller die Viskosität beeinflussen, und Verf. bemerkt, daß nachdem das Wachstum und die Wirksamkeit des Bac. viscosus durch das Anstellhefequantum und die Gärungstemperatur geregelt wird, unter den

gegenwärtigen wie voraussichtlich auch unter den zukünftigen Betriebsverhältnissen der Brauereien Amerikas keine Gefahr vonseiten dieser Bakterie zu befürchten ist. Just. Chr. Holm.

Kossowicz, A. Einführung in die Agrikulturmykologie. I. Teil: Bodenbakteriologie. VIII + 143 Seiten m. 47 Textabb. Berlin, Gebr. Borntraeger, 1912.

Das vorliegende Buch zerfällt in vier Abschnitte: 1. Der Kreislauf der Elemente unter Mitwirkung von Mikroorganismen (Kohlenstoff, Sauerstoff, Wasserstoff, Stickstoff, Schwefel, Phosphor und Eisen), 2. Mykologie des Bodens, 3. Mykologie des Düngers, 4. Einfluß der Düngung auf die Mikroflora des Bodens. Der erste, 74 Seiten umfassende Abschnitt ist in 5 Kapitel eingeteilt; auf die übrigen drei Abschnitte entfallen 30 Seiten, ihnen folgt ein 26 Seiten umfassendes Literaturverzeichnis sowie ein Sachregister (13 Seiten). Sowohl infolge der übersichtlichen Einteilung des Stoffes wie wegen der Art der Behandlung des Gegenstandes wird diese „Agrikulturmykologie" ihre Aufgabe als einführendes Lehrbuch zweifellos ebenso gut erfüllen, wie die im Vorjahre erschienenen Werke des Verf.s über die „Mykologie der Nahrungs- und Genußmittel". Die beigegebenen Abbildungen sind mit Sorgfalt ausgewählt und die benutzte Literatur genau angegeben, so daß auch die Wege zu einem tiefer eindringenden Studium überall geebnet sind. Die eigene Betätigung des Verf.s auf den verschiedenen hier in Frage kommenden Gebieten hat das Zustandekommen eines in allen wesentlichen Punkten wissenschaftlich einwandfreien Werkes sichergestellt. Hinsichtlich der Ausstattung reiht sich das Buch allen anderen im gleichen Verlage erschienenen Publikationen würdig an. Löhnis.

Temple, J. C. Why do some soils nitrify organic nitrogenous substances and the ammonia salts of organic acids faster than they do ammonium sulphate or ammonium chloride? Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 64.

Die Ursache dieser abweichenden Nitrifikationsweise ist nicht (wie besonders von Withers u. a. vermutet wurde) in einem spezifischen Organismenbestand, sondern lediglich in der Kalkarmut resp. in dem sauren Charakter der betreffenden Erden zu suchen. Nach Zugabe von $CaCO_3$ wurden auch die mineralischen Ammonsalze in normaler Weise nitrifiziert.

Löhnis.

Trillat, A. Étude sur les causes du caillage du lait observé pendant les périodes orageuses. Compt. rend. hebd. de l'Acad. Paris **154**, 1912, S. 613—616.

Eine fördernde Einwirkung des elektrischen Funkens oder des elektrischen Stromes, von Ozon, Ammonnitrat sowie von Dämpfen salpetriger Säure auf die Gerinnung gewöhnlicher oder mit Reinkultur von Milchsäure-

bakterien versetzter Milch war nicht wahrzunehmen, eher machte sich eine Verzögerung geltend.

Nachdem Verf. in früheren, Bd. 1, S. 183 referierten Versuchen festgestellt hatte, daß Wachstum und Wirkung der Milchsäurebakterien durch die aus faulender Bouillon oder aus feuchter Erde entweichenden Gase beschleunigt wird, lag es im Hinblick auf das infolge der Verminderung des Luftdrucks in Gewitter-Perioden erleichterte Ausströmen flüchtiger Substanzen aus fermentierenden Substraten nahe, dieses Moment zur Erklärung des vorzeitigen Gerinnens der Milch heranzuziehen. Entsprechende Versuche erwiesen in der Tat, daß in der Nähe faulender Bouillon oder mit organischen Stoffen versetzter, feuchter Erde aufbewahrte Milch bei Herabsetzung des Luftdrucks rascher säuerte und vorzeitig gerann. Neben dem auf verstärkte Luftinfektion und hohe Temperatur zurückzuführenden Effekt ist also auch dieser Umstand in Rechnung zu ziehen, und zwar nicht nur beim Gerinnen der Milch, sondern auch bei dem raschen Verderben von Fleisch, Bäckerhefe, gärfähigen Flüssigkeiten usw. in Gewitterzeiten. Bei der während starker meteorologischer Störungen nicht selten sehr beschleunigten Ausbreitung von Seuchen kommt dieser Faktor vielleicht ebenfalls in Betracht. Löhnis.

Schwers, H. Megalothrix discophora, eine neue Eisenbakterie. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 273—276, m. 5 Taf.

In zahlreichen europäischen und afrikanischen eisen- oder manganhaltigen Schlammproben wurde (z. T. vorherrschend) eine neue Eisenbakterie mit sehr breiter Scheide und kreisrunder Haftscheibe gefunden. Die Fäden erreichen eine Länge von 300 μ, sie sind an einem Ende dünner und zeigen zuweilen dichotome Verzweigung. Die Scheide ist am unteren Ende 10 bis 12 μ breit, der Kanal mißt 1—1,5 μ. Die Art scheint ebenso verbreitet zu sein wie Leptothrix ochracea und Gallionella ferruginea. Löhnis.

Rullmann, W. Über Eisenbakterien. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 277—288, m. 2 Taf.

Verf. berichtet über seine Versuche zur Gewinnung von Crenothrix-Reinkulturen. Die von Winogradsky und von Rößler angegebenen Methoden erwiesen sich als nicht geeignet. Zur Anhäufung diente: 1000 ccm Wasser + 0,3 ccm Bouillon + 5 g Eisenammonsulfat + 5 g Eisenammonzitrat, zur Reinzüchtung Torf-Extrakt-Agar oder -Gelatine, bereitet aus 1000 ccm destilliertem Wasser, das 1 Tag mit Torfstücken in Berührung war, + 0,5 g Manganpepton + 0,5 g Mangan-Phospholacticum. Das aus dem Anhäufungsversuch stammende Material wurde aufgestrichen oder aufgetropft; es lieferte ziemlich, doch nicht absolut reine Kulturen. Die beigegebenen Photogramme wurden z. T. schon 1907 veröffentlicht; neu sind die Koloniebilder auf Tafel II. Gelegentlich entwickelte sich auf der Platte ein eisenspeichernder Aspergillus. Löhnis.

Kellerman, K. F. and McBeth, J. G. Soil organisms which destroy cellulose. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 63—64.

Nach Omelianskis Arbeitsweise konnte weder der Wasserstoff- noch der Methanbazillus der Zellulose-Gärung erlangt werden. Es wuchsen neben mehreren Arten von Begleitbakterien drei Zellulose-Zersetzer, die jedoch keinerlei Übereinstimmung mit jenen Organismen zeigten. Außerdem wurden aus verschiedenen Quellen elf andere zelluloselösende Bakterien isoliert, eine von ihnen war thermophil. Die meisten Stämme wuchsen gut auf Fleischagar, Gelatine, Kartoffeln usw.; einige verflüssigten die Gelatine. Sie gediehen sämtlich, auch wenn sie unter anaeroben Bedingungen gezüchtet waren, aerob ebenso gut oder besser als unter Luftabschluß. — Mindestens ebenso wichtig wie die zellulosezersetzenden Bakterien sind die mit dieser Fähigkeit ausgestatteten Hyphomyceten. Über 75 Arten wurden isoliert, meist Angehörige der Genera Penicillium, Aspergillus und Fusarium. Im Zersetzungsprozeß wirken oft Organismen fördernd mit, die in Reinkultur Zellulose nicht angreifen. Löhnis.

Prazmowski, A. Die Entwicklungsgeschichte, Morphologie und Cytologie des Azotobacter chroococcum Beijer. (Vorläufige Mitteilung.) Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 292—305.

Azotobacter erscheint im ersten, vegetativen Lebensstadium als einfaches oder Doppelstäbchen, im Fruktifikationsstadium als einfacher oder Doppelkokkus. Unter günstigen Bedingungen ist es in allen Stadien frei beweglich; die Stäbchen sind peritrich begeißelt, die Kokken besitzen meist nur eine polare Geißel. Der Zellkern verschwindet vor der Sporenbildung und tritt nach dem Auskeimen wieder auf. Die sogen. Sarcina-Formen sind morphologisch und physiologisch den Endosporen der übrigen Bakterien gleichzustellen, besonders ähneln sie sehr denen des B. Bütschlii. Auch die einzelnen Kokken können Sporen liefern. Löhnis.

Lipman, Ch. B. Toxic effects of „Alkali salts" in soils on soil bacteria. II. Nitrification. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **33**, 1912, S. 305—313.

Größere Mengen Na_2CO_3, NaCl und Na_2SO_4 schädigen (in abnehmendem Grade) die nitrifizierenden Organismen. Die Giftwirkung wird wahrnehmbar, wenn die Erde 0,025 % Na_2CO_3, 0,1 % NaCl, resp. 0,35 % Na_2SO_4 enthält. Kleine Mengen NaCl oder Na_2SO_4 (besonders dieses bis zu dem angegebenen Grenzwert) wirken stimulierend. Diese Tatsache kommt für die Erklärung des hohen Nitratgehalts karbonatarmer Alkaliböden in Betracht. Löhnis.

Kellerman, K. F. The present status of soil inoculation. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **34**, 1912, S. 42—50, w. 2 pl.

Es wird hauptsächlich über die in den Vereinigten Staaten gesammelten Erfahrungen referiert; eine vollständige Übersicht der amerikanischen Publi-

kationen ist beigefügt. Der vom U. S. Agricultural Department ausgegebene Impfstoff erzielte im Laufe der letzten 7 Jahre 38 % positive und ebensoviel zweifelhafte Erfolge, in 24 % der Fälle blieb eine Wirkung aus. In einigen von L. T. Leonard unter Verf.s Leitung durchgeführten Versuchen gelang es, unter Benutzung eines im Jahre 1906 aus Luzerne isolierten und seitdem auf künstlichem Substrat fortgezüchteten Bakterienstammes außer Luzerne auch Sojabohne und Lupine erfolgreich zu infizieren. Die Knöllchenbakterien sind demnach als eine Art aufzufassen. Die peritriche Begeißelung konnte mit Hilfe eines (a. a. O. S. 46, Anm. 2) näher geschilderten Verfahrens sehr deutlich nachgewiesen werden; aus einem der beigegebenen Photogramme ist dies ebenfalls klar zu ersehen. Löhnis.

Thimme, K. Über die Beeinflussung des biologischen Verfahrens durch industrielle Abwässer. Gesundheits-Ingenieur, **35**, 1912, S. 26, 542.

Verf. untersuchte die Beeinflussung der biologischen Abwasserklärung durch Rhodanammonium und durch saure Reaktion des Rohwassers. Zu seinen Versuchen benutzte er kleine, aus Schlacken aufgebaute Tropfkörper, die mit verdünnten, möglichst von Fibrin befreitem Blut beschickt wurden. Er fand, daß bei einem Gehalt bis zu 50 mg Rhodan im Liter die Abnahme der Oxydierbarkeit im Ablauf nur wenig geringer ist als bei dem Kontrollkörper, erst bei noch größerem Rhodangehalt wird der Unterschied deutlicher. Die Nitrifikation läßt erst bei einem Zusatz von über 50 mg Rhodan pro Liter eine Beeinträchtigung erkennen. Aus dem Rhodanammonium werden nachweisbare Mengen von Salpetersäure nicht gebildet, der gesamte Stickstoff desselben wird vielmehr in Ammoniak überführt, solange die Rhodanmenge 50 mg im Liter nicht übersteigt, bei höheren Gaben konnte im Ablauf noch unzersetztes Rhodanammonium nachgewiesen werden. In allen Fällen wurde der Schwefel des Rhodans vollständig in Schwefelsäure überführt. Das mit dem Rohwasser zugeführte Albumin wurde bei Rhodanammoniumgaben bis zu 40 mg pro Liter noch vollständig zersetzt, bei höheren Gaben fiel die Biuretreaktion positiv aus. Um zu entscheiden, ob sauer reagierende Abwässer der biologischen Reinigung keinen Widerstand entgegensetzen, wurden dem Rohwasser steigende Mengen einer klaren Lösung rohen Tonerdesulfates, das einige Prozent freier Säure enthält, zugesetzt. Es zeigte sich, daß durch einen geringen Zusatz von schwefelsaurer Tonerde (100 mg pro 1 Liter), so daß die Alkalität der Blutlösung zur Neutralisation genügte, die Abnahme der Oxydierbarkeit eine wesentliche Steigerung erfährt, daß aber ein erhebliches Nachlassen in der Abnahme der Oxydierbarkeit eintritt, wenn 200 mg Tonerdesulfat zugesetzt werden. Bei noch größeren Gaben beträgt die Abnahme der Oxydierbarkeit ziemlich konstant 50 % und bleibt damit hinter den Leistungen des Kontrollkörpers erheblich zurück. Sowohl der Ausfall der Biuretreaktion als auch die Ergebnisse der Keimzählung und der Untersuchung des Schlackenbelages bestätigten, daß schon

eine schwach saure Reaktion, selbst wenn sie nicht von freier Säure herrührt, eine erhebliche Schädigung des biologischen Verfahrens hervorbringt.

Verf. hebt hervor, daß aller Wahrscheinlichkeit nach im Großbetriebe, wo die biologischen Körper möglichst stark beansprucht werden und die Zusammensetzung des Rohwassers häufig eine ungünstigere ist, die Grenzen, bei welchen eine schädigende Wirkung zu beobachten ist, niedriger liegen dürften. A. Müller.

Lewis, Ph. D. L. Evanston's Experience with Hypochlorite of Lime and Typhoid Fever, A Summary of the Results of Sterilizing Lake Michigan Water. Engineering Record, **65**, 1912, Nr. 11, 300.

Die 25000 Einwohner zählende Stadt Evanston entnimmt ihr gesamtes Wasser dem Michigansee. Ohne jede Vorbehandlung wurde das Wasser bis Ende 1911 direkt in die Leitungen gepumpt, trotzdem die Entnahmestelle stark durch die ebenfalls dem See zugeführten Abwässer der Stadt verschmutzt ist. Im Zusammenhang mit dieser mangelhaften Wasserversorgung steht eine auffallend hohe Typhussterblichkeit. Besonders in den Wintermonaten, wenn infolge der mangelhaften Selbstreinigung des Wassers der Keimgehalt desselben eine große Höhe erreicht (bis 5000 in 1 ccm), ist eine merkliche Zunahme der Typhusfälle festzustellen. Im Dezember 1911, als wiederum Typhuserkrankungen in größerer Zahl auftraten, wurde das Wasser einer Chlorkalkbehandlung mit dem Erfolge unterzogen, daß neue Erkrankungen nicht mehr zu verzeichnen waren. Die Laboratoriumsversuche des Verf.s zeigten, daß ca. 9 kg Chlorkalk mit 37 % wirksamem Chlor zu 4500 cbm Wasser zugesetzt werden mußten, um eine wirksame Sterilisation zu erzielen. Da diese Menge aber unzulässig hoch erschien, wurden zunächst 4,5 kg und als sich auch jetzt noch Klagen über schlechten Geruch und Geschmack des Wassers häuften, ca. 2,25 kg der gleichen Menge Wasser zugemischt. Je nach der Rohwasserbeschaffenheit wurde die Chlorkalkmenge variiert. Als Maßstab für die Bemessung des Chlorkalks hat sich der Trübigkeitsgrad des Wassers gut bewährt. Durch die Chlorkalkbehandlung wurde die Typhusepidemie zwar zum Stillstand gebracht, doch gelang es nicht, die gasbildenden Bakterien aus dem Wasser sämtlich zu entfernen. Verf. sucht das dadurch zu erklären, daß an der Schöpfstelle das dem Seewasser beigemischte Abwasser noch ziemlich frisch ist, die Keime also sehr widerstandsfähig sein werden, und daß feste organische Partikel, die nur äußerlich sterilisiert sind, im Innern aber noch lebensfähige Keime enthalten können, mit in das Leitungswasser gelangen. A. Müller.

Studien über langstabförmige Milchsäurebakterien (Laktobazillen).

Von **Chr. Barthel.**

(Mitteilung aus dem bakteriologischen Laboratorium der Zentralanstalt für landwirtschaftliches Versuchswesen auf Experimentalfältet bei Stockholm.)

Die langstabförmigen Milchsäurebakterien, von denen manche Arten schon seit langer Zeit eine große und wohl erforschte Rolle in den verschiedenen Gärungsindustrien (besonders in den Brennereien, den Weißbier-, Milchsäure- und Hefeindustrien) spielen, sind bis vor nur wenigen Jahren im Molkereiwesen ziemlich unbekannt geblieben, wofern man die von v. Freudenreich um das Jahr 1890 aus dem Emmentaler Käse isolierten Milchsäure bildenden Langstäbchen ausnimmt. Die Ursache hiervon war ganz einfach die, daß diese Bakterien gar nicht oder nur schlecht auf den gewöhnlichen Nährsubstraten, besonders bei Temperaturen unter 30°, gedeihen und außerdem im Mikroskop ziemlich oft mit Arten verwechselt worden sind, die zur Mesentericus-Gruppe gehören.

Erst als die bulgarische Sauermilch (das Yoghurt) durch Metchnikoffs Arbeiten über die Dickdarmflora des Menschen einen Weltruhm erlangte, wurde die für das Yoghurt charakteristische langstäbige Milchsäurebakterie unter dem Namen Bacillus bulgaricus Gegenstand eingehender Untersuchungen seitens der Milchbakteriologen. Durch diese Untersuchungen, welche anfangs noch ziemlich unsicher umhertasteten, gewann man indessen allmählich Klarheit darüber, daß man hinsichtlich des Bac. bulgaricus nicht mit einer für die bulgarische Sauermilch spezifischen Bakteriengruppe zu tun hatte, sondern daß derselbe nur eine Form einer weit verzweigten Gruppe von langstabförmigen Milchsäurebakterien war, welche nicht nur in den verschiedenerlei sauern und gegorenen Milchpräparaten, die schon seit uralten Zeiten bereitet werden (Kumys und Kefir [Asien], Yoghurt [Türkei, Balkanstaaten],

Mazun [Armenien], Leben raib [Ägypten], Gioddu [Sardinien])[1], sondern auch in der Natur, im menschlichen und tierischen Darmkanal, in gewöhnlicher Milch und in Molkereiprodukten usw. weit verbreitet sind. Der Name Laktobazillen, den Beijerinck im Jahre 1901 für die langstäbigen, echten Milchsäurebakterien vorschlug, zum Unterschied von den kurzstäbigen oder runden, welche er Laktokokken nannte, ist seitdem der in der wissenschaftlichen Literatur allgemein angewandte Trivialname für diese Gruppe geworden.

Nachdem die allgemeine Verbreitung der Laktobazillen und die Bedeutung derselben allmählich immer mehr bekannt geworden ist, haben sie in der allerneuesten Zeit in hohem Grade das Interesse der Milchbakteriologen in Anspruch genommen, und sicher ist, daß die Untersuchungen, deren Gegenstand sie nunmehr in so verschiedenerlei Richtung sind, schon manche für das praktische Molkereiwesen wichtige Resultate ergeben haben und noch ergeben werden.

Bezüglich der Resultate, die schon erlangt worden sind, will ich hier nur kurz auf die Resultate der Untersuchungen hinweisen, die von Orla-Jensen[2]) und Rosengren[3]) über die Laktobazillen, insofern diese wesentlich zum „Hefegeschmack" der Butter beitragen, ausgeführt worden sind. Ferner will ich auf die vielen vortrefflichen Arbeiten von v. Freudenreich und Orla-Jensen über das Reifen des Emmentaler Käses hinweisen, welche zeigen, daß bei diesem Käse die langstäbigen Milchsäurebakterien und besonders Bact. casei ε v. Freudenreich die wirksamsten Faktoren sind. Diese Bakterien sind hernach[4]) auch im Tilsiter-, Gouda-, Edamer-, Romadour-, Harz-, Camembert-, Schabzieger-, Limburger- und Backsteinkäse, ferner im holsteinischen Magerkäse, im dänischen Güterkäse[5]), im Cheddar-, Chester- und im schwedischen Güterkäse[6]) aufgefunden worden. Es dürfte daher sehr wahrscheinlich sein, daß Laktobazillen sich in allen Käsesorten vorfinden, nachdem man sie in allen bisher untersuchten Käsearten angetroffen hat.

Während die Morphologie und die kulturellen Eigenschaften der Laktobazillen schon eingehend erforscht sind, haben sich die wenig zahl-

---

[1]) Vor kurzem hat Kindračzuck (Österr. Molk.-Ztg., 1912, S. 257) den für das in den Karpathen angewandte Sauermilchpräparat „Huslanka" charakteristischen Laktobazillus isoliert.

[2]) Orla-Jensen, Malkeritidende, 1910, S. 965.

[3]) Rosengren, Milchw. Zentralbl., 1912, S. 321.

[4]) Siehe Wolff, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 34, 1912, S. 537.

[5]) Orla-Jensen, Maelkeribakteriologi, Kopenhagen, 1912, S. 106.

[6]) In diesem Letztgenannten sind sie von Fräulein Gerda Troili-Petersson nachgewiesen worden.

reichen Untersuchungen, die man über die biochemischen Verhältnisse derselben ausgeführt hat, fast ausschließlich mit den eigentlichen Yoghurtbazillen befaßt. Da es indessen vor allem von Wichtigkeit ist, eine möglichst umfassende Kenntnis von den allgemeinen biochemischen Eigenschaften der Gruppe zu erlangen, damit man hernach auf dieser Grundlage mit umso größerem Erfolg ihre Bedeutung für das Molkereiwesen nach verschiedenen Richtungen nachweisen könne, so habe ich es für geeignet gehalten, in einem gewissen Maße die Lücke auszufüllen zu suchen, die in der Kenntnis über diese Seite des Lebens der Laktobazillen noch vorhanden ist.

Das Material, mit dem diese Untersuchungen ausgeführt wurden, bestand aus 10 Stämmen von Laktobazillen, welche sich hinsichtlich ihrer Herkunft in drei Gruppen teilen lassen, nämlich in Laktobazillen, die aus Yoghurt, die aus gewöhnlicher Milch und die aus Käse isoliert worden sind. Hierbei lag der Gedanke zugrunde, daß Laktobazillen, die in echtem Yoghurt und in Milch vorkommen, ja möglicherweise verschiedener Art sein konnten und daß diejenigen, die vom Käse herstammen, vielleicht ebenfalls solche mit abweichenden Eigenschaften sind, da man ja, besonders was den Emmentaler Käse angeht, voraussetzen kann, daß sie vom Kälbermagen herrühren, aus welchem sie durch das aus demselben bereitete natürliche Lab in die Käsemilch übergeführt werden. Die Laktobazillen der Butter hingegen stammen ja direkt aus der Milch.

Ich will nun dazu übergehen, jeden der von mir angewandten Stämme für sich und die Herkunft dieser Stämme zu beschreiben.

Yoghurt I wurde isoliert aus der von der Firma M. Groll in Wien in flüssiger Form hergestellten Yoghurtkultur. Die Kultur enthielt typische Laktobazillen und große Milchsäurediplokokken. Nach drei Umpflanzungen in sterile Magermilch bei 43° waren die Diplokokken verschwunden und die Bazillen allein in Reinkultur zurückgeblieben, was noch weiterhin durch Verdünnungen auf Laktoseagar kontrolliert wurde.

Größe[1]): (Das Präparat, ebenso wie bei den folgenden Stämmen, mit Methylenblau gefärbt)

Länge: Minimum = 2,5 μ,
Maximum = 7,0 μ,
Dicke . . . . = 0,8 μ.

Yoghurt II wurde aus einem im Handel vorkommenden Yoghurt isoliert, welches unter Anwendung von Mühlrads Yoghurttabletten be-

[1]) Die Messungen sind vorgenommen an 24 Stunden alter Milchkultur (43°).

reitet war (Fabrikant: Hygiene-Laboratorium, Berlin-Wilmersdorf). Das Yoghurtpräparat, aus dem die Isolierung vorgenommen wurde, enthielt nur Laktobazillen und Milchsäurediplokokken. Durch Verdünnungen in Laktoseagar wurde der Bazillus in Reinkultur erhalten.

Größe: Länge: Minimum = 1,5 μ,
Maximum = 5,0 μ,
Dicke . . . . = 0,8 μ.

Yoghurt III stammt von dem bekannten von der Société „Le Ferment" in Paris hergestellten Präparat „Lactobacilline". In diesem besonderen Fall wurde zur Isolierung sog. „Lactobacilline en pâte" angewandt, eine weiße, salbenartige Masse, welche in kleinen Malertuben aufbewahrt wird und dazu bestimmt ist, auf chirurgische Verbände zur Desinfektion von Wunden und dergl. gestrichen zu werden. Das Präparat enthielt die Laktobazillen in Reinkultur, und dieser Stamm stellte die größten und kräftigsten Stäbe unter meinen 10 Stämmen dar.

Größe: Länge: Minimum = 2,5 μ,
Maximum = 10,0 μ,
Dicke . . . . = 1,0 μ.

Milch I. Dieser Stamm wurde aus gewöhnlicher Handelsmilch, welche bei 37° zum Koagulieren gebracht war, durch täglich wiederholte Umpflanzungen in sterile Magermilch bei 43° isoliert. Nach acht Umpflanzungen befanden sich die Stäbe, welche bei den allerersten Umpflanzungen sehr spärlich auftraten, in Reinkultur. Sodann wurden Verdünnungen auf Laktoseagar vorgenommen.

Größe: Länge: Minimum = 2,0 μ,
Maximum = 5,0 μ,
Dicke . . . . = 0,8 μ.

Daß sich Laktobazillen in gewöhnlicher Milch vorfinden, ist ja zuerst von Leichmann schon im Jahre 1896[1]) nachgewiesen worden. Leichmann ist also der erste Entdecker der langstäbigen Milchsäurebakterien in gewöhnlicher Milch, und seine Beschreibung stimmt auf Punkt und Strich zu unseren heutigen Laktobazillen. Es ist daher nicht richtig, wenn Hastings und Hammer[2]) im Jahre 1910 sich für die ersten halten, die die Aufmerksamkeit auf das allgemeine Vorkommen dieser Bazillen in gewöhnlicher Milch gelenkt hätten. Sie sagen nämlich (S. 420): „As far as the writers are aware, no one has supposed that similar organisms are commonly found in milk."

---

[1]) Leichmann, Milch-Zeitung, 1896, S. 67.

[2]) Hastings und Hammer, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 25, 1910, S. 419.

Bei meinen eigenen Untersuchungen habe ich gefunden, daß es stets gelingt, aus gewöhnlicher Milch und Magermilch Laktobazillen ganz einfach durch wiederholte Umpflanzungen bei über 40° zu isolieren. Verschiedene Milchproben verhalten sich indessen sehr verschieden hinsichtlich der Anzahl der Umpflanzungen, die notwendig sind, um die Laktobazillen in Reinkultur zu erhalten.

Milch II. Wurde isoliert aus Handelsmilch, ebenso wie der vorhergehende, durch wiederholte Umpflanzungen bei 43°. Nach vier Umpflanzungen fanden sich nur Laktobazillen in der Milch vor, worauf Aussaaten in Laktoseagar vorgenommen wurden.

Größe: Länge: Minimum = 1,5 μ.
Maximum = 3,5 μ,
Dicke . . . . . = 0,8 μ.

Milch III. Isoliert aus Magermilch auf dieselbe Weise wie der vorhergehende. Die Magermilch zeigte die Storchsche Reaktion, war also nicht auf 80° pasteurisiert worden. Nach sechs Umpflanzungen wurden nur Laktobazillen gefunden.

Größe: Länge: Minimum = 1,5 μ,
Maximum = 5,0 μ,
Dicke . . . . . = 0,8 μ.

Milch IV. Aus Magermilch. Storchsche Reaktion positiv. Schon nach einer Umpflanzung waren nur Laktobazillen mikroskopisch nachzuweisen, weswegen Verdünnungen wie gewöhnlich in Laktoseagar vorgenommen wurden. Hier traten fast ausschließlich Kolonien von Laktobazillen auf neben einzelnen von Streptococcus lacticus.

Größe: Länge: Minimum = 3,0 μ,
Maximum = 8,5 μ,
Dicke . . . . . = 0,8 μ.

Milch V. Reingezüchtet aus Milch zu Alnarp. Diesen Stamm erhielt ich, ebenso wie die beiden folgenden, durch freundliches Entgegenkommen von Dr. L. F. Rosengren-Alnarp.

Größe: Länge: Minimum = 2,5 μ,
Maximum = 8,0 μ,
Dicke . . . . . = 0,8 μ.

Bact. casei ε (1). Diesen Stamm erhielt Dr. Rosengren im Jahre 1903 von Dr. v. Freudenreich. Er ist durch oft vorgenommene Umpflanzungen bei kräftiger Virulenz gehalten worden.

Größe: Länge: Minimum = 3,5 μ.
Maximum = 7,0 μ,
Dicke . . . . . = 0,8 μ.

Bact. casei ε (2). Dr. Rosengren erhielt diesen Stamm im Jahre 1911 von dem Direktor der Versuchsanstalt zu Liebefeld-Bern, Prof. Dr. R. Burri.

Größe: Länge: Minimum = 2,0 μ,
Maximum = 4,5 μ,
Dicke . . . . . = 0,8 μ.

Sämtliche Stämme zeigten gerade oder leicht gebogene, kräftige Stäbchen mit abgerundeten Enden. Alle waren unbeweglich und bildeten keine Sporen. Sie ließen sich alle nach den gewöhnlich angewandten Färbungsmethoden färben, auch nach Gram. Bei der Färbung mit verdünnter Methylenblaulösung waren oft schön dunkelrot gefärbte Körnchen im Protoplasma wahrzunehmen. Bei der Färbung nach Neisser tritt diese Körnchenbildung besonders schön hervor. Vieles ist über diese Körnchenbildung bei den Laktobazillen geschrieben worden, ohne daß es aber bisher geglückt ist, die chemische Natur dieser Körnchen zu bestimmen oder die Ursache ihres Auftretens festzustellen. Auch meine eigenen, sehr langwierigen Untersuchungen haben hierüber keine bestimmten Resultate ergeben. Die Körnigkeit tritt zuweilen auf und verschwindet zuweilen, ohne daß man die Ursache hiervon bestimmen kann. Es ist keine bezeichnende Eigenschaft für gewisse Stämme, denn es trat bei allen 10 Stämmen, die ich studiert habe, auf, bei Yoghurt III jedoch selten. Auch ist die Körnigkeit nicht an ein gewisses Substrat oder an eine bestimmte Temperatur gebunden. Es tritt jedoch nach dem, was ich gefunden habe, in Milchkulturen bei niedrigeren Temperaturen weit öfter als bei höheren auf. Aber auch diese Regel hat viele Ausnahmen. Körnchentragende und körnchenfreie Zellen kommen oft miteinander vermischt vor.

Im Gegensatz zu anderen Forschern, besonders zu Kuntze[1]), sind White und Avery[2]) der Ansicht, daß die Körnigkeit als ein konstanter Stammescharakter zu betrachten ist, da unter den von diesen Forschern studierten 14 Stämmen keiner eine Variabilität in dieser Hinsicht aufwies. Ein Teil zeigte nie Körnigkeit, ein Teil stets. Wie ich schon erwähnt habe, weichen die Resultate meiner eigenen Untersuchungen hiervon ab; sie stimmen in dieser Hinsicht vollständig mit denjenigen Kuntzes überein.

---

[1]) Kuntze, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 21, 1908, S. 737.

[2]) White und Avery, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 25, 1910, S. 161.

Kuntze[1]) und später White und Avery[2]) beschreiben eine bei den Laktobazillen zuweilen vorkommende Plasmoptyse. Kuntze gibt in seiner hier zitierten Arbeit ein vortreffliches Photogramm, welches dieses Phänomen darstellt (Photogramm Nr. 13), während White und Avery dasselbe in einer farbigen Tafel abgebildet haben. Diese Plasmoptyse besteht in einem unter gewissen Verhältnissen eintretenden Ausdrängen des Plasmas aus den Zellen. Die austretenden Plasmaklümpchen lagern sich bei den Zellen in der Form von kolbenartigen oder ellipsoidischen Bildungen ab, welche mit den Zellen durch feine Plasmafäden verbunden sind. Kuntze fand diese Bildungen in Bierwürzeagarkulturen bei 37°, White und Avery in Molkenagarkulturen bei 40°, aber sehr selten in Milch. Ich selbst habe in seltenen Fällen diese Plasmoptyse in Milchkulturen wahrnehmen können.

Echte Verzweigungen, welche Kuntze wahrgenommen haben will (Photogramm 11), habe ich niemals nachweisen können, aber oft habe ich Zellen so nebeneinander gelagert gefunden, daß sie ein Bild zustande brachten, das einer echten Verzweigung täuschend ähnlich sah.

Wir wollen nun dazu übergehen, die Wachstumsweise der Bazillen in verschiedenen Substraten zu beschreiben.

Laktosegelatine, 22°. Äußerst schwaches, perlenbandartiges Wachstum im Stichkanal bei Yoghurt III, Milch I, II und III, sowie Bact. casei ε (1) und (2). Kein Wachstum bei den übrigen.

Laktoseagar, 37°. Nach zwei Tagen treten kleine, weißgraue, unregelmäßig punktförmige Kolonien hervor, welche bei schwacher Vergrößerung das für Laktobazillen charakteristische Aussehen zeigen, welches übrigens demjenigen der Kolonien von Bac. putrificus sehr ähnlich ist. Jedoch variiert das Aussehen der Kolonien nicht wenig bei den verschiedenen Stämmen. Am dritten Tage bei 37° sind die Kolonien von Milch I, Milch II und Milch III noch ganz klein, höchstens 0,5 mm im Durchmesser. Bei schwacher Vergrößerung zeigen sie eine unregelmäßige, runde Form mit grobkörnigem, bräunlichem, nicht differenzierbarem Inhalt. Am Rande sind sie gleichsam ausgefasert, mit kurzen, fransenartigen Ausläufern. Die ganze Kolonie bildet jedoch eine kompakte, scharf begrenzte Masse (Tafel I, Fig. 1). Diesen Stämmen stehen hinsichtlich des Aussehens der Agarkolonien sehr nahe Bact. ε v. Freudenreich (1) und (2) (Tafel I, Fig. 2). Milch IV und Yoghurt I und II haben größere Kolonien, ungefähr 1—1,5 mm

[1]) Kuntze, a. a. O.

[2]) White und Avery, a a. O.

im Durchmesser. Dieselben zeigen schon dem bloßen Auge das charakteristische, flockige oder wattetüpfchenähnliche Aussehen. Bei schwacher Vergrößerung sind sie bräunlich, von unregelmäßiger, dem Putrificus völlig ähnlicher Form (Tafel I, Fig. 3). Milch V und Yoghurt III haben je ein von den übrigen Stämmen stark abweichendes Aussehen bei ihren Kolonien. Milch V bildet nämlich ungewöhnlich große Kolonien, 2—3 mm im Durchmesser, von regelmäßigem, ringförmigem Aussehen, mit einem kleinen Kern in der Mitte. Bei schwacher Vergrößerung erweist sich der „Ring“ in seiner Struktur als völlig gleich mit den vorhergehenden Kolonien, wenn auch etwas lockerer. Yoghurt III bildet Kolonien, die makroskopisch in Größe und Form mit den Kolonien der anderen Yoghurtstämme übereinstimmen, aber bei schwacher Vergrößerung haben sie eine regelmäßigere, kreisförmige Begrenzung, sowie eine Struktur, die lebhaft an „Eisblumen“ mit radiärer Bildung erinnert (Tafel I, Fig. 4).

Im Gegensatz zu Sandberg[1]), welcher bei seinen Untersuchungen über die Laktobazillen des Verdauungskanals (die Acidophilus-Gruppe) fand, daß das Aussehen der Kolonien in Traubenzuckeragar bei einem und demselben Stamm unter den beiden Typen, die bei meinen Untersuchungen durch die Stämme Milch I, II und III einerseits und Milch IV und Yoghurt I und II andererseits vertreten sind, je nach dem Milchsäuregehalt des Substrats variiert, habe ich gefunden, daß meine Stämme hinsichtlich des Aussehens der Kolonien in Zuckeragar sich sehr konstant zeigen.

Das mikroskopische Aussehen der Bazillen der Agarkolonien ist bei allen Stämmen im großen ganzen dasselbe; sie zeigen sich nämlich als kürzere oder längere, in der Regel gebogene Stäbchen von übrigens sehr unregelmäßiger Form. Oft sind ungefärbte Stellen innerhalb der Stäbchen zu sehen, und zum Teil weisen diese in hohem Grade verdrehte, keulenförmige oder korkzieherartig gewundene Formen auf. Völlig dieselben Formen hat übrigens Henneberg[2]) bei Bierwürzeagarkulturen von Bacillus Delbrücki, einem in gewissen Gärungsindustrien wohlbekannten Laktobazillus, der jedoch Milchzucker nicht vergärt, abgebildet und beschrieben.

Milch. Bei 37° und 43° koagulieren sämtliche Stämme die Milch völlig fest und homogen, ohne eine Spur von Gas oder abgeschiedenem Serum, ganz wie bei Streptococcus lacticus. Bei 43° geht die

---

[1]) Sandberg, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 51, 1903, S. 89.

[2]) Henneberg, Gärungsbakteriologisches Praktikum, Berlin, 1909, S. 448.

Koagulation stets innerhalb 24 Stunden vor sich, bei 37° am häufigsten innerhalb 24 Stunden und immer innerhalb 48 Stunden. Bei 22°—24° tritt keine Koagulation ein, aber die Laktobazillen leben und entwickeln sich jedoch auch dann, wenn auch langsam.

Das Aussehen der Bazillen in Milch variiert mit der Temperatur. Da ihr Temperaturoptimum bei ungefähr 40° liegt, haben natürlich die Zellen bei dieser Temperatur, in jungen Kulturen, ihr normales und am meisten charakteristisches Aussehen. In Milchkultur von 24 Stunden bei 43° treten Yoghurt I, II und III, sowie Milch IV und V in der Form von langen, kräftigen geraden oder leicht gebogenen Stäbchen mit abgerundeten Enden auf (Tafel II, Fig. 1). Am größten sind Yoghurt III (Tafel II, Fig. 2). Milch I, II und III unterscheiden sich von den eben genannten Stämmen dadurch, daß die Stäbchen in der Regel bedeutend kürzer sind (Tafel II, Fig. 3); die Dicke ist jedoch dieselbe. Bact. casei ε (1) bildet abweichend von den vorhergehenden auch bei dieser hohen Temperatur (43°) sehr lange, oft gebogene Verbände von in der Regel langen, oft gebogenen Stäbchen (Tafel II, Fig. 4). Oft liegen 2 oder 3 Stäbchen nebeneinander in bündelartigen Gruppierungen. In diesem letztern Fall stimmt das Aussehen vollkommen mit den bekannten Photogrammen überein, die v. Freudenreich selbst über diese Art publiziert hat und von denen ein typisches in Lafars „Handbuch der technischen Mykologie“, Bd. 2, S. 72, wiedergegeben ist. Ein typisches, ganz verschiedenartiges Aussehen bietet Bact. casei ε (2) dar. Es tritt niemals in Verbänden auf, und die Zellen selbst sind bedeutend kürzer und gerader als bei Bact. casei ε (1) (Tafel II, Fig. 5). Die hier beschriebenen Formen bei den verschiedenen Stämmen in Milchkultur sind sehr konstant, da sie noch jetzt, wo dieses geschrieben wird, nachdem die meisten Stämme ungefähr während eines Jahres in Milch oft umgepflanzt worden sind, sich im großen ganzen unverändert erweisen.

Die Körnigkeit kommt bei sämtlichen Stämmen sehr selten in diesen jungen Milchkulturen bei 43° vor.

Je nachdem die Milchkulturen bei niedrigerer oder höherer Temperatur gehalten werden, nimmt die Tendenz der Bazillen, in kürzern oder längern Verbänden vorzukommen, zu, während hierbei die Körnigkeit in der Regel deutlicher hervortritt (eine Regel, die gleichwohl viele Ausnahmen hat). Die Bazillen entwickeln sich auch in Milch bei 24°, aber sehr langsam. Noch nach mehreren Wochen erscheint kein Anzeichen von Koagulation, aber der Säuregrad nimmt doch merklich zu (siehe weiter unten), und wenn eine solche Kultur bei 43° in den Thermostat

gestellt wird, so ist sie im allgemeinen innerhalb 24 Stunden fest und homogen koaguliert, wobei die Zellen zu sehr langen, oft verschlungenen Verbänden vereinigt erscheinen, welche oft so lang sind, daß sie mehr als ein Gesichtsfeld einnehmen. Wird eine solche alte Milchkultur, welche bei 24° stehen geblieben ist, ehe sie bei 43° hingestellt wird, umgepflanzt, so treten die Bazillen wieder unter der gewöhnlichen, bei dieser Temperatur typischen Form von isolierten, geraden Stäbchen auf.

In zuckerfreier Bouillon entwickeln sich die Laktobazillen in der Regel gar nicht; einige Stämme bewirken jedoch eine schwache Trübung. In Glykose- oder Laktosebouillon wachsen sie hingegen sehr gut unter kräftiger Trübung des Substrats. Involutionsformen sind jedoch hierbei sehr oft anzutreffen. Die Yoghurtstämme, Milch I, II und III und Bact. casei ε (2) behalten bei den Bouillonkulturen in der Regel die isolierte Stäbchenform bei oder bilden höchstens kurze, gerade oder unbedeutend gebogene Verbände, während Milch IV und V, sowie Bact. casei ε (1) lange, gebogene Verbände bilden. Die Körnigkeit tritt oft bei sämtlichen Stämmen in den Bouillonkulturen auf, aber gewöhnlich auf unregelmäßige Weise.

Säurebildungsvermögen in Milch.

Um das Vermögen der verschiedenen Stämme, Milchsäure bei verschiedenen Temperaturen zu bilden, prüfen zu können, wurde eine Reihe von Versuchen in der Weise angestellt, daß von einer Milchkultur von 24 Stunden (43°) eine Platinöse in jeden von sechs Kolben mit je 100 ccm steriler Magermilch geimpft wurde. Zwei der Kolben wurden sodann bei 43°, zwei bei 37° und zwei bei 22° aufgestellt. Nach sechs Tagen wurde der Inhalt sämtlicher Kolben mit $^{n}/_{10}$ KOH und Phenolphthalein titriert. Bei allen diesen Versuchen waren die Kulturen bei 43° innerhalb 24 Stunden koaguliert, bei 37° ebenfalls innerhalb 24 Stunden (bis auf einige Ausnahmen, die jedoch innerhalb 30 Stunden koagulierten). Die Kulturen bei 22° koagulierten natürlich nicht. Durch eine besonders vorgenommene Untersuchung mit einigen der Stämme wurde zunächst festgestellt, daß der Säuregrad sein Maximum nach 4 Tagen bei 37° erreicht hatte. Da ich, wie oben erwähnt, erst nach 6 Tagen titrierte, dürfte es als ganz sicher anzusehen sein, daß bei den Titrierungen die Maximalsäurebildung wirklich erreicht war, ausgenommen natürlich bei 22°. Der Säuregrad bei den verschiedenen Kulturen, der aus Tabelle I hervorgeht, ist durch die Anzahl ccm $^{n}/_{10}$ KOH pro ccm Milch ausgedrückt. Jede Zahl stellt die Mittelzahl von zwei Parallelversuchen dar.

Tabelle I.

Temperatur	Stamm									
	Yoghurt I	Yoghurt II	Yoghurt III	Milch I	Milch II	Milch III	Milch IV	Milch V	Bact. casei ε (1)	Bact. casei ε (2)
43°	193	197	275	168	209	176	140	302	301	193
37°	183	203	310	233	250	220	154	313	368	197
22°	21	17	60	28	51	32	24	88	60	30

Bei später vorgenommenen Kontrolluntersuchungen zeigte es sich, wie ja zu erwarten war, daß der Maximalsäuregehalt bei den verschiedenen Temperaturen recht beträchtlich bei dem einen und andern Stamm in den verschiedenen Fällen variierte, aber die Abweichungen in der Säureproduktion untereinander bei den verschiedenen Stämmen scheinen sich doch, im ganzen genommen, ziemlich konstant zu halten. So ergab sich stets das niedrigste Resultat bei Milch I und IV, das höchste bei Yoghurt III, Milch V und B. casei ε (1).

Das erreichte Säuremaximum ist für alle Stämme, außer für Milch I, bei 37° höher als bei 43°. Dies ist auch von White und Avery[1]) und Rosengren[2]) beobachtet worden, und Schierbeck[3]) hat, wie bekannt, schon vor längerer Zeit bezüglich der Milchsäurebildung in Milch durch Streptococcus lacticus nachgewiesen, daß bei niedrigerer Temperatur die Milchsäuregärung sicherlich langsamer vor sich geht als bei höherer, daß aber dafür die in dem erstern Fall produzierte absolute Säuremenge größer ist.

Lebensdauer in Milch bei verschiedenen Temperaturen.

Von 24 Stunden alten Milchkulturen (43°) wurde eine Platinöse in jedes aus einer größern Anzahl Röhrchen, welche 10 ccm sterile Magermilch enthielten, geimpft. Einige von diesen Röhrchen wurden bei 43° und einige bei 37° aufgestellt. Sämtliche Röhrchen koagulierten stets innerhalb 24 Stunden. Jeden Tag wurde zu derselben Zeit ein Röhrchen aus jedem Thermostat genommen und in sterile Milchröhrchen übergeimpft, welche bei 43° hingestellt wurden. Koagulierte dann der Inhalt dieser spätern Röhrchen, so waren ja die Kulturen am Leben, im entgegengesetzten Fall waren sie tot. Die Resultate dieser Versuche gehen aus

1) White und Avery, a. a. O.

2) Rosengren, a. a. O.

3) Schierbeck, Zentralbl. für Bakt., Abt. II. Bd. 7, 1901, S. 107.

Tabelle II hervor. + bedeutet, daß die Bakterien am Leben waren, —, daß sie tot waren.

Tabelle II.

Nach Tagen	Yoghurt I		Yoghurt II		Yoghurt III		Milch I		Milch II		Milch III		Milch IV		Milch V		Bact. casei ε (1)		Bact. casei ε (2)	
	37°	43°	37°	43°	37°	43°	37°	43°	37°	43°	37°	43°	37°	43°	37°	43°	37°	43°	37°	43°
1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	+	+	+
4	+	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	.	+	.	+	—	+	—
5	+	.	+	.	+	—	+	—	+	+	+	+	+	.	+	.	+	.	+	.
6	+	.	—	.	+	.	+	.	+	—	+	+	+	.	+	.	+	.	+	.
7	+	.	.	.	—	.	+	.	+	.	+	+	—	.	+	.	+	.	+	.
8	—	.	.	.	.	.	+	.	+	.	+	—	.	.	—	.	+	.	+	.
9	.	.	.	.	.	.	+	.	+	.	+	.	.	.	.	.	—	.	+	.
10	.	.	.	.	.	.	+	.	—	.	+	.	.	.	.	.	.	.	—	.
11	.	.	.	.	.	.	—	.	.	.	—	.	.	.	.	.	.	.	.	.
12	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

Die Lebensdauer bei 43° hat also zwischen 2 und 5 Tagen und bei 37° zwischen 5 und 10 Tagen geschwankt. Werden die Kulturen bei 43° nach 24 Stunden aus dem Thermostat genommen und sodann bei Zimmertemperatur gehalten, so leben sie sicher 4 Wochen und zuweilen bedeutend länger. Um die Stammkulturen am Leben zu erhalten, ohne daß ihre Virulenz merklich abgeschwächt wird, muß man sie indessen mindestens einmal monatlich umpflanzen.

Die Lebensdauer der Laktobazillen bei einigen 20 Grad ist nach Monaten zu berechnen; daher können die Versuche hierüber nicht in die folgende Tabelle aufgenommen werden. Zwei Stämme, nämlich Yoghurt I und Milch I, sind in dieser Hinsicht untersucht worden. Hierbei wurde festgestellt, daß diese beiden Stämme in Milchkulturen bei 22° noch nach 3 Monaten am Leben waren, ohne daß jedoch die Milch koaguliert war[1]). Beim Hinstellen der Kultur bei 43° oder beim Überimpfen in sterile Milch (43°) fand die Koagulation innerhalb 24 Stunden statt. Im ersteren Fall zeigte die mikroskopische Untersuchung sehr lange, schlingelnde Verbände, die oft länger waren als der Durchmesser des

[1]) Henneberg, (Zeitschr. f. Spiritusindustrie, 1912, Nr. 30) hat gefunden, daß B. bulgaricus in Milchkultur bei Zusatz von Kreide mehr als 7 Monate im Eisschrank am Leben gehalten werden kann.

Gesichtsfeldes, und kräftige Körnchenbildung. In letzterem Fall wurden die gewöhnlichen typischen, isolierten, geraden Stäbchen, ohne die Körnigkeit, erhalten.

Vergärung verschiedener Kohlehydrate.

Die Angaben, die sich in der Literatur über das Vermögen der Laktobazillen, verschiedene Kohlehydrate zu vergären, vorfinden, sind zum Teil einander ganz widersprechend. Damit man eine größere Übersichtlichkeit über die bisher erhaltenen Resultate erlange, habe ich dieselben unten in Tabellenform zusammengestellt, ohne im übrigen Anspruch auf absolute Vollständigkeit zu erheben. + bedeutet Vergärung des in Frage stehenden Kohlehydrats.

Tabelle III.

	Grigoroff [1])	Margaillan [2])	Bertrand und Duchacek [3])	Cohendy [4])	Hastings und Hammer [5])	White und Avery [6])
Dextrose	+	+	+	+	+	+
Lävulose	+	.	+	+	.	.
Laktose	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	.	—	+	.	Bei den übrigen Kohlehydraten variable Vergärung.
Saccharose	.	—	—	+	+	
Galaktose	.	.	+	.	.	
Mannose	.	.	+	.	.	.
Rhamnose	—	.	.	.	.	.
Sorbose	.	.	—	.	.	.
Arabinose	.	.	—	.	.	.
Xylose	.	.	—	.	.	.
Mannit	+	.	—	.	+	.
Dulcit	—	.	.	.	.	.
Sorbit	—	.	.	.	.	.

Es geht aus dieser Zusammenstellung hervor, daß Dextrose, Lävulose und Laktose stets vergärt wurden, wenn Versuche mit diesen Zuckerarten stattfanden. Was Maltose, Saccharose und Mannit betrifft, so sind die Resultate widersprechend. Dies läßt sich jedoch teils da-

[1]) Zitiert nach Kochs Jahresbericht 1905, S. 293.

[2]) Margaillan, Compt. rend. hebd. des séances de l'acad. de sc. 1910, I, Nr. 1.

[3]) Bertrand und Duchacek, Biochem. Zeitschr., Bd. 20, 1909, S. 100.

[4]) Zitiert nach Kochs Jahresbericht 1905, S. 419.

[5]) Hastings und Hammer, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 25, 1910, S. 419.

[6]) White und Avery, a. a. O.

durch erklären, daß die verschiedenen Forscher im Vergleich zueinander mit verschiedenen Stämmen gearbeitet haben, teils dadurch, daß von ihnen verschiedene Nährsubstrate als Grundsubstrate benutzt worden sind.

Bei unseren eigenen Versuchen wurde als Grundsubstrat Bouillon angewandt, die ihres natürlichen Zuckergehaltes dadurch befreit worden war, daß man sie mit einer Reinkultur von Streptococcus lacticus versetzt hatte und mehrere Tage bei 37° hatte gären lassen. Nachdem sie sodann filtriert und auf Kolben mit einem Quantum von je 50 ccm verteilt war, wurde die Bouillon in den verschiedenen Kolben mit 1% der verschiedenen Kohlehydrate versetzt und darnach sterilisiert. Die Kohlehydrate und höheren Alkohole, die zur Anwendung kamen, waren folgende: Dextrose, Lävulose, Laktose, Maltose, Saccharose, Arabinose, Mannit, Glyzerin.

Die Bouillon war stets völlig klar, so daß die geringste Trübung, die hernach durch die Entwicklung der Laktobazillen entstand, leicht wahrzunehmen war.

Die Kolben wurden nun mit je einer Platinöse von 24 Stunden alten Kulturen (43°) der verschiedenen Stämme geimpft und blieben sodann 6 Tage bei 37° unter wiederholtem Umschütteln stehen. Darauf wurde der Kolbeninhalt direkt mit $^{n}/_{10}$ KOH und Phenolphthalein titriert. Die unbedeutende Säuremenge, die sich bei Beginn der Versuche in der Bouillon befand, ist überall in den folgenden Tabellen abgezogen worden. Zur Kontrolle wurden sämtliche Stämme in zuckerfreie Bouillon geimpft, aber keiner vermochte in derselben den Säuregrad um mehr als ein paar Zehntel eines Kubikzentimeters zu erhöhen.

Tabelle IV.

Stamm	Kubikzentimeter $^{n}/_{10}$ KOH zu 50 ccm Kultur							
	Dextrose	Lävulose	Laktose	Maltose	Saccharose	Arabinose	Mannit	Glyzerin
Yoghurt I	15,0	13,5	16,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
„ II	11,3	20,8	11,3	0,5	0,2	0,0	0,0	0,0
„ III	12,6	2,2	9,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Milch I	16,1	21,7	16,7	9,0	10,7	0,0	0,0	0,0
„ II	21,3	27,5	13,8	10,3	20,0	0,6	0,0	0,0
„ III	15,5	16,5	16,7	8,4	10,7	0,3	0,0	0,0
„ IV	8,3	13,5	10,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
„ V	16,0	3,8	12,3	10,5	0,0	0,7	0,0	0,0
Bact. casei ε (1)	36,0	41,0	33,0	37,5	5,0	3,5	12,0	1,7
„ „ (2)	24,0	30,5	16,7	9,5	12,5	0,8	0,0	0,0

Diese Versuche wurden mehrere Male wiederholt mit in der Hauptsache denselben Resultaten, wenn auch die einzelnen Ziffern natürlich etwas variierten. Die einzigen Abweichungen, die sich ergaben, waren die, daß Milch V bei einem Versuch die Maltose nicht vergärte und daß Bact. casei ε (1) bei einem Versuch die Saccharose gar nicht vergärte, während, wie aus der Tabelle hervorgeht, in diesem Falle eine deutliche, wenn auch schwache Gärung eintrat. Da also, im ganzen genommen, die Resultate der wiederholten Gärungsversuche übereinstimmten, so muß man wohl diesen Resultaten eine gewisse Bedeutung beimessen, wenn auch durch frühere Arbeiten in betreff anderer Bakterien bekannt ist, daß das Vergärungsvermögen bei einem und demselben Stamm gegenüber verschiedenen Kohlehydraten variabel sein kann. Gleichfalls ist es ja eine bekannte Tatsache, daß ein Mikroorganismus, der ein gewisses Kohlehydrat nicht vergärt, durch geeignete Anpassung dahin gebracht werden kann, hierin seine Natur zu verändern. Um indessen einen bessern Überblick über die bei unseren Versuchen erhaltenen Resultate zu bieten, habe ich dieselben wiederum in Tabelle V zusammengestellt, in welcher + Vergärung des in Frage stehenden Kohlehydrats, — keine Vergärung und (+) eine schwache Vergärung bedeutet. Die Zahlen, die in Tabelle IV < 1,0 betragen, sind in Tabelle V mit — bezeichnet.

Tabelle V.

Stamm	Dextrose	Lävulose	Laktose	Maltose	Saccharose	Arabinose	Mannit	Glyzerin
Yoghurt I . .	+	+	+	—	—	—	—	—
„ II . .	+	+	+	—	—	—	—	—
„ III . .	+	(+)	+	—	—	—	—	—
Milch I . . .	+	+	+	+	+	—	—	—
„ II . . .	+	+	+	+	+	—	—	—
„ III . . .	+	+	+	+	+	—	—	—
„ IV . . .	+	+	+	—	—	—	—	—
„ V . . .	+	(+)	+	+	—	—	—	—
Bact. casei ε (1)	+	+	+	+	+	(+)	+	(+)
„ „ (2)	+	+	+	+	+	—	—	—

Wir sehen also, daß alle Stämme Dextrose, Lävulose und Laktose vergären. Maltose wird nicht von den Yoghurtstämmen, wohl aber von allen Milchstämmen, außer Nr. 4, sowie von Bact. casei ε (1) und (2) vergärt. Dasselbe Verhältnis ist gegenüber Saccharose vorhanden, welche außerdem nicht von Milch V vergärt wird. Arabinose, Mannit und Glyzerin werden nur von Bact. casei ε (1) vergärt.

Bildung von flüchtigen Säuren in Milch.

Die Angaben, die ich in der Literatur in betreff der Produktion von flüchtigen Säuren in Milch durch Laktobazillen habe auffinden können, sind nicht sehr zahlreich. Was zunächst die Menge der gebildeten flüchtigen Säuren angeht, so fanden Heinemann und Hefferan[1]), daß diese bis zu 5,8—6,1% der Gesamtsäure betrug. Bertrand und Weisweiller[2]) fanden 2%, während Effront[3]) bei der Einwirkung von „ferment bulgare Bertrand" 6,4% erhielt. Alle diese Angaben betreffen den Bac. bulgaricus. Bezüglich des Bact. casei ε fand Orla-Jensen[4]) bei Versuchen ohne Zusatz von Kreide nach fünf Monaten bei 20° 3,7—3,8% flüchtige Säuren, von dem vergorenen Milchzucker berechnet, welcher bei diesen Versuchen ungefähr 50% ausmachte. Was die Arten der gebildeten flüchtigen Säuren angeht, so bestehen diese Säuren nach Bertrand und Weisweiller[5]), sowie nach Bertrand und Duchacek[6]) zum weitaus größten Teil aus Essigsäure, nebst geringen Mengen Ameisensäure. Bei Bact. casei ε bestehen sie nach Orla-Jensen[7]) hauptsächlich aus Essigsäure und daneben aus Ameisensäure und Propionsäure.

Unsere eigenen Untersuchungen wurden auf folgende Weise ausgeführt: Von den verschiedenen Stämmen (zugleich von einem Stamm von Streptococcus lacticus zum Zweck des Vergleiches) wurde 1 ccm einer 24 Stunden alten Kultur (43°) in Kolben, welche je 500 ccm sterile Magermilch enthielten, geimpft. Die Kulturen wurden 14 Tage bei 37° stehen gelassen, worauf dann zunächst der totale Säuregehalt durch Titrieren mit $^n/_{10}$ KOH und Phenolphthalein bestimmt wurde.

Sodann wurde anfangs versucht, nach Ansäuern mit Phosphorsäure die flüchtigen Säuren direkt aus der koagulierten Milch im Vakuum mit Wasserdampf nach Weldes Methode[8]) abzudestillieren; diese Methode hat den Vorteil, daß die Milchsäure quantitativ in dem Destillationskolben zurückbleibt.

Dieses Verfahren erwies sich jedoch als unmöglich wegen der starken Schaumbildung, die sich durch keine Mittel vermeiden ließ.

[1]) Heinemann und Hefferan, Journ. of inf. diseases, Vol. 6, 1909, S. 304.
[2]) Bertrand und Weisweiller, Annales de l'Inst. Pasteur, T. 20, 1906, S. 977.
[3]) Effront, Compt. rend. de l'acad. de sciences, T. 152, 1911, S. 463.
[4]) Orla-Jensen, Landw. Jahrb. d. Schweiz, 1904, S. 349.
[5]) Bertrand und Weisweiller, a. a. O.
[6]) Bertrand und Duchacek, Biochem. Zeitschr. Bd. 20, 1909, S. 100.
[7]) Orla-Jensen, a. a. O.
[8]) Siehe Barthel, Methoden zur Untersuchung von Milch und Molkereiprodukten. II. Aufl. Leipzig 1911, S. 276.

Wir gingen deshalb dazu über, das Koagulum abzufiltrieren und einen aliquoten Teil des Filtrats zu destillieren. Das Ansäuern mit Phosphorsäure stellte sich auch als überflüssig heraus, da der Milchsäuregehalt hoch genug war, um die flüchtigen Säuren zu vertreiben. Man kann natürlich auf die Möglichkeit hinweisen, daß die flüchtigen Säuren zum großen Teil in dem Koagulum beim Filtrieren zurückgeblieben sind, weil das Koagulum nicht gewaschen wurde, aber verschiedene Untersuchungen, die zu dem Zwecke vorgenommen wurden, dieses Verhältnis festzustellen, ergaben als Resultat, daß die in der Kaseinfällung verbliebene Menge von flüchtigen Säuren proportionsweise keineswegs größer war als in dem Filtrat.

Es wurden jedesmal 250 ccm Filtrat destilliert, wobei die Destillation in zwei Reprisen geschah, um mehr Destillat zu erhalten. Die zusammengefaßte Menge des Destillats belief sich im allgemeinen auf mehr als 1 Liter.

Das Destillat wurde mit $^{n}/_{10}$ $Ba(OH)_2$ neutralisiert, eingedunstet, filtriert, um die möglicherweise vorhandenen Spuren von Baryumkarbonat wegzuschaffen, und schließlich mit HNO_3 neutralisiert, worauf eine fraktionierte Fällung der flüchtigen Fettsäuren mit Silbernitrat und zwar nach der von Orla-Jensen beschriebenen Methode[1]) vorgenommen wurde.

Hierdurch wurden bei allen Stämmen zwei Fraktionen erhalten, eine erste, gelbbraune und eine zweite, die augenblicklich schwarz wurde und von der man deshalb mit ziemlich großer Sicherheit annehmen konnte, daß sie aus Ameisensäure bestand. Beide Fraktionen waren indessen stets zu klein, um eine quantitative Bestimmung des Silbers und damit eine Bestimmung der Natur der in der betreffenden Fraktion enthaltenen flüchtigen Säure zu gestatten; hingegen ließ sich Essigsäure durch die bekannte Reaktion mit $FeCl_3$ stets nachweisen, und die Ameisensäure dürfte durch das oben genannte Verhältnis ihres Silbersalzes zum Licht hinreichend charakterisiert sein. In einem Falle wurde indessen eine quantitative Bestimmung der Ameisensäure (bei Yoghurt III) ausgeführt, wobei sich ergab, daß die Menge derselben zur Menge der Essigsäure sich wie 1 : 5,5 verhielt.

Die hierbei zur Bestimmung der Ameisensäure angewandte Methode war folgende, welche zuerst von Porter und Ruyssen[2]) angewandt worden ist:

[1]) Siehe Barthel, Methoden zur Untersuchung usw., S. 270.

[2]) Abderhalden, Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden. Bd. II, erste Hälfte, S. 22.

Ein Teil der neutralisierten Lösung der flüchtigen Säuren wurde mit Quecksilberchlorid (50 g $HgCl_2$ + 27,5 g Natriumazetat pro Liter) versetzt und sechs Stunden lang im Wasserbad erwärmt. Hierbei wurde $HgCl_2$ zu unlöslichem Quecksilberchlorür reduziert; dieses wurde auf einem vorher getrockneten und gewogenen Filter gesammelt, getrocknet und gewogen.

1 Gewichtsteil Hg_2Cl_2 = 0,0976 Gewichtsteilen Ameisensäure.

Dieses Resultat stimmt also mit den vorhin genannten Resultaten von Bertrand und Weisweiller und den später von Bertrand und Duchacek erhaltenen überein[1]).

Die Menge der produzierten Totalsäure und der flüchtigen Säure, sowie das Verhältnis dieser Mengen zueinander bei den verschiedenen Stämmen geht aus unten stehender Tabelle hervor.

Tabelle VI.

	Yoghurt I	Yoghurt II	Yoghurt III	Milch I	Milch II	Milch III	Milch IV	Milch V	Bact. casei ε (1)	Bact. casei ε (2)	Streptococcus lacticus
Totalsäure in ccm $^{n}/_{10}$ KOH pro 100 ccm Kultur	227	233	329	138	242	229	180	352	365	203	85
Flüchtige Säuren in ccm $^{n}/_{10}$ $Ba(OH)_2$ pro 100 ccm Filtrat . .	7,9	4,8	17,6	2,3	5,1	2,7	5,2	25,2	15,3	7,0	2
Flüchtige Säuren in % der Totalsäure . .	**3,5**	**2,1**	**5,3**	**1,7**	**2,1**	**1,1**	**2,9**	**7,1**	**4,2**	**3,4**	**2,3**

Die Menge der flüchtigen Säuren, ausgedrückt in Prozenten der Totalsäure, variiert also bei den verschiedenen Stämmen beträchtlich, nämlich zwischen 1,1 und 7,1 %.

Die Art der gebildeten Milchsäure. Bernsteinsäure.

Es dürfte jetzt als außer allem Zweifel gestellt gelten, daß die Laktobazillen nicht alle nur eine Art von Milchsäure produzieren, sondern daß vielmehr die optischen Eigenschaften der gebildeten Milchsäure recht beträchtlich variieren. So fand Leichmann[2]) linksdrehende Säure,

[1]) Daß bei Bact. casei ε außer Essigsäure und Ameisensäure auch Propionsäure gebildet wird, geht aus Orla-Jensens vorhin erwähnten Untersuchungen hervor.

[2]) Leichmann, a. a. O.

während Grigoroff[1]), Heinemann und Hefferan[2]) inaktive Säure fanden. Dasselbe fand Orla-Jensen[3]) für Bact. casei ε, während White und Avery[4]) nachwiesen, daß ihr Typus A (Yoghurtbazillen) inaktive Milchsäure, ihr Typus B (Mazunbazillen) hingegen linksdrehende Säure produzierte. Bertrand und Duchacek[5]) fanden, daß Bac. bulgaricus in künstlichen Substraten (Malzextrakt als Grundsubstrat) inaktive Säure bildete, daß aber in Milch etwas weniger **l**- als **d**-Milchsäure gebildet wurde, weswegen die Mischung in Milch rechtsdrehend wird.

Currie[6]) fand, daß Laktobazillen, die aus Speichel und Kot von Menschen, aus Malz und Cheddarkäse isoliert waren, rechtsdrehende Milchsäure, gemischt mit etwas inaktiver Säure, gaben. Bakterien, die aus Fäces von Pferden und von Kühen isoliert waren, gaben nur inaktive Säure. Aus Milch, die bei 38° sauer geworden war, und aus Cheddarkäse wurden weitere Bakterien isoliert, welche Mischungen von rechts- und linksdrehender Milchsäure gaben, und endlich wurde aus Cheddarkäse eine Bakterie isoliert, die ausschließlich linksdrehende Milchsäure produzierte. Endlich fanden ganz neuerdings Hastings, Alice C. Evans und Hard[7]), daß von zehn verschiedenen Laktobazillenstämmen vier inaktive Säure, einer ein Gemenge von inaktiver und linksdrehender Milchsäure, zwei ein Gemenge von inaktiver und rechtsdrehender Säure und zwei reine rechtsdrehende Milchsäure produzierten. Eine einzige Kultur bildete reine linksdrehende Milchsäure. Elf andere Kulturen, isoliert aus anderen Substraten als Milch oder Käse, bildeten entweder nur rechtsdrehende oder inaktive Milchsäure. Was Bernsteinsäure angeht, so haben Bertrand und Weisweiller in ihrer vorhin mehrmals erwähnten Arbeit konstatiert, daß Bac. bulgaricus recht beträchtliche Mengen derselben in Milch bildet, was hernach von andern Forschern bekräftigt worden ist.

Bei unseren eigenen Untersuchungen wurde der bei der Bestimmung der flüchtigen Säuren erhaltene Destillationsrückstand zur Unter-

---

[1]) Grigoroff, a. a. O.

[2]) Heinemann und Hefferan, a. a. O.

[3]) Orla-Jensen, a. a. O.

[4]) White und Avery, a. a. O.

[5]) Bertrand und Duchacek, a. a. O.

[6]) Currie, Journ. of Biol. Chem., Bd. 10, 1911, S. 201, zitiert nach Bull. de l'Inst. Pasteur, Bd. 10, 1912, S. 345.

[7]) Hastings, Alice C. Evans u. Hard, Wisconsin Agr. Exp. Stat. Research Bull. 25, 1912.

suchung der Art der gebildeten Milchsäure und zum Nachweis etwa vorhandener Bernsteinsäure benutzt.

Zu diesem Zweck wurde der Rückstand im Scheidetrichter mit Äther (6 mal) ausgeschüttelt. Der Äther wurde abdestilliert und der Rückstand in Wasser aufgenommen und filtriert. Das Filtrat wurde mit NaOH neutralisiert und mit $BaCl_2$ versetzt. Hierbei scheidet sich das leichtlösliche Baryumlaktat von dem schwerlöslichen Baryumsuccinat. Die erhaltene Fällung wurde mit Wasser ausgewaschen[1]).

a) Das Filtrat, welches die Milchsäure enthielt, wurde eingedunstet und mit Phosphorsäure angesäuert, worauf die Milchsäure mit Äther extrahiert und auf die gewöhnliche Weise in Zinksalz übergeführt wurde[2]).

b) Die Fällung, welche die Bernsteinsäure enthielt, wurde getrocknet und in eine Glasschale übergeführt, sowie mit HNO_3 (spez. Gew. 1,40) durchfeuchtet, worauf die Salpetersäure auf dem Wasserbade abgedampft wurde. Um die Salpetersäure völlig zu vertreiben, wurde etwas Wasser zugesetzt und aufs neue abgedampft. Darauf wurde mit 50 ccm Äther 24 Stunden lang extrahiert. Der Äther wurde abgedunstet und der Rückstand, welcher zur Umkristallisierung stets zu gering war, auf Bernsteinsäure mittels der Pyrrolreaktion[3]) geprüft. Diese Reaktion wurde auf folgende Weise ausgeführt:

Der Rückstand wurde in 1 ccm Wasser gelöst und in ein Probierröhrchen gebracht. Es wurde 1 ccm NH_3 zugesetzt und das Ganze gekocht, bis das Volumen 1 ccm ausmachte; hierauf wurde 1 g Zinkstaub zugesetzt. Nachdem sodann das Ammoniak durch Kochen vertrieben war, wurde der Inhalt des Röhrchens geglüht und Pyrrol mittels eines in HCl getauchten Tannenspans nachgewiesen, welcher von dem Pyrrol kirschrot gefärbt wird.

In Tabelle VII sind die Resultate der Untersuchungen nach der Art der Milchsäure zusammengestellt[4]).

Von den zehn Stämmen bilden also 7 Links-Milchsäure, 1 Rechts-Milchsäure und 2 inaktive Säure, d. h. gleiche Mengen von Rechts- und Links-Milchsäure. Yoghurt III verhält sich hierbei etwas eigentümlich, indem der Gehalt des Zinklaktats an Kristallwasser 18% ausmacht, was also sehr wohl zu inaktiver Säure stimmt, während die

---

[1]) Kozai, Zeitschr. für Hyg. u. Inf.-Krankheiten, Bd. 38, 1901, S. 391.

[2]) Siehe Barthel, Methoden zur Untersuchung usw. S. 268.

[3]) Abderhalden, Biochem. Arbeitsmeth., Bd. II. 1. Hälfte, S. 24.

[4]) Die Polarisationsversuche wurden bei 7 von den 10 Stämmen zweimal mit verschiedenen Kulturen ausgeführt und zwar mit übereinstimmenden Resultaten.

Lösung zugleich eine deutliche, wenn auch geringe Drehung der Polarisationsebene nach links zeigte. Die von Bertrand und Duchacek[1]) untersuchte Art, welche nach brieflicher Mitteilung von Dr. Bertrand mit meinem Yoghurt III (aus „Laktobacilline") identisch ist, bildete in Milch eine Mischung von d- und l-Milchsäure, in welcher jedoch die d-Milchsäure vorherrscht, da ein kleiner Teil der l-Milchsäure wahrscheinlich in d-Säure umgewandelt wird. Gerade in dem Augenblick der Bildung soll sich nach obengenannten Forschern rechts- und linksdrehende Milchsäure bei dieser Art in gleichen Mengen (inaktive Säure) bilden; ehe man aber dazu gelangt, die Analyse vorzunehmen, ist schon etwas von der Links-Milchsäure verschwunden.

Tabelle VII.

	Yoghurt I	Yoghurt II	Yoghurt III	Milch I	Milch II	Milch III	Milch IV	Milch V	Bact. casei ε (1)	Bact. casei ε (2)
Polarisation, konz. Lösung	rechts	rechts	links	rechts	rechts	rechts	rechts	0	0	rechts
Art der Milchsäure	linksdrehend	linksdrehend	rechtsdrehend	linksdrehend	linksdrehend	linksdrehend	linksdrehend	inaktiv	inaktiv	linksdrehend
Gehalt des Zn-Salzes an Kristallwasser in %	12,85	12,81	18,0	12,85	12,92	12,93	12,82	18,03	18,12	12,93
Gehalt des Zn-Salzes an ZnO in %	29,15	29,23	27,60	29,20	29,03	29,20	29,27	26,93	27,22	29,28

In betreff des Bact. casei ε hat ja Orla-Jensen[2]) schon früher gefunden, daß dasselbe inaktive Säure bildet.

Was die Bernsteinsäure angeht, so ergab sich, daß alle 10 Stämme eine deutliche Pyrrolreaktion zeigten, und zwar Milch V in schwachem, alle die übrigen aber in starkem Maße. Bernsteinsäure wird also von allen Stämmen, im geringsten Maße aber von Milch V, gebildet.

[1]) Bertrand und Duchacek, a. a. O.

[2]) Orla-Jensen, a. a. O.

Kaseinspaltung.

Nur sehr spärliche Angaben liegen in der Literatur in betreff der Einwirkung der Laktobazillen auf das Kasein der Milch vor. Bertrand und Weisweiller[1]) fanden, daß Bac. bulgaricus nur ungefähr $^1/_{10}$ des Kaseins löslich zu machen vermochte, während Hastings und Hammer[2]) ungefähr $^3/_{10}$ nach 3 Monaten gelöst vorfanden. Ihr Laktobazillus vergärte indessen Saccharose und Mannit und unterschied sich auch darin von demjenigen, mit dem die französischen Forscher ihre Untersuchungen veranstaltet hatten. Hastings, Alice C. Evans und Hart[3]) fanden nach 3 Monaten bei acht Kulturen eine Zunahme des löslichen Eiweißstickstoffes zwischen 1,66 bis 7,65, ausgedrückt in Prozent des Totalstickstoffs. In allen diesen Fällen war indessen die Milch nicht mit Kreide versetzt worden, so daß die Kaseinspaltung natürlich bald aufhörte. Daneben wird wahrscheinlich ein Teil des Kaseins von der gebildeten Milchsäure gelöst. Sorgt man indessen durch Zusatz von Kreide für Neutralisation der gebildeten Milchsäure, so findet eine bedeutende Kaseinspaltung statt, wie v. Freudenreich und Orla-Jensen hinsichtlich der im Emmentaler Käse vorkommenden Laktobazillen nachgewiesen haben, und es war natürlich gerade aus diesem Grunde, daß diese Forscher diesen langstäbigen Milchsäurebakterien die wichtigste Rolle bei dem Reifungsprozeß der Hartkäse zuschrieben.

Was besonders Bact casei ε angeht, so hat Orla-Jensen[4]) gezeigt, daß dieses ebenso wie Bact. casei α das Kasein nicht peptonisiert, sondern aus demselben direkt große Mengen Monoaminosäuren abspaltet, wofern man nur die Neutralisation der gebildeten Milchsäure vorsieht. Irgend welche proteolytische Enzyme bilden die Laktobazillen nicht.

Um ein Bild von den Umwandlungen der Eiweißstoffe in Milchkulturen zu erhalten, bestimmt Orla-Jensen (ebenso wie im Käse) die Stickstoffmenge der löslichen stickstoffhaltigen Stoffe, welche Menge er mit (L. N.) bezeichnet, die Stickstoffmenge der Stoffe, die sich nicht durch Phosphorwolframsäure abscheiden lassen (S. N.)[5]), sowie den Ammoniakstickstoff (A. N), und drückt das Ganze in Prozenten von dem Totalstickstoff der Milch aus.

---

[1]) Bertrand und Weisweiler a. a. O.

[2]) Hastings und Hammer a. a. O.

[3]) Hastings, Alice C. Evans und Hart a. a. O.

[4]) Orla-Jensen a. a. O.

[5]) Hauptsächlich Monoaminosäuren. — S. N. bedeutet Spaltungsstickstoff.

Das Bild, das man auf diese Weise von der Umwandlung des Käsestoffes erhält, ist ja sehr übersichtlich. Vielleicht läßt es sich vervollständigen durch Anwendung der Sörensenschen Formoltitriermethode[1]), welche weiterhin von Sörensen und Henriques und von Henriques und Gjaldbäk[2]) ausgearbeitet worden ist. Ich habe mich indessen bei meinen eignen Untersuchungen nur an die Orla-Jensensche Methode gehalten, um nicht die an und für sich beschwerlichen Untersuchungen mit den zehn Stämmen noch komplizierter zu machen.

Erlenmeyerkolben mit je 500 ccm Magermilch wurden mit Kreide in hinreichender Menge versetzt, um eine der ganzen Milchzuckermenge entsprechende Quantität Milchsäure neutralisieren zu können, und sterilisiert. Sodann wurden die Kolben mit je 1 ccm von 24 Stunden alten Kulturen (43°) der verschiedenen Stämme geimpft. Außer Kontrollkolben mit Kreide wurde auch ein mit Streptococcus lacticus geimpfter Kolben verwandt. Die Kolben wurden bei 37° zwei Monate lang unter täglich wiederholtem Umschütteln stehen gelassen. Schon innerhalb 24 Stunden war der Inhalt aller geimpfter Kolben koaguliert. Nach dem Umschütteln sinkt das Kasein zu Boden und die obenstehenden Molken färben sich immer mehr gelb bis gelbbraun, so daß sie schließlich bei gewissen Stämmen Bouillon gleichen. In auffallend hohem Grade färbten sich die Molken von Milch V. Diese Kultur war dunkelbraun. Damit bei der Analyse das verdunstete Wasser ersetzt werden konnte, wurden die Kolben beim Einstellen und Herausnehmen aus dem Thermostat gewogen, außerdem die Kolbenmündungen durch umgebundenes steriles Papier verschlossen, um ein zu schnelles Verdunsten zu verhindern.

Bei dem Herausnehmen aus dem Thermostat nach 2 Monaten waren die Kontrollkolben mit Kreide steril geblieben. Ehe der Inhalt der Kolben der chemischen Analyse unterworfen wurde, führte man zunächst Stichkulturen in Gelatine sowie Impfungen in sterile Milch aus, teils um zu kontrollieren, ob eine Infektion stattgefunden hätte, teils um zu sehen, ob die Laktobazillen sich noch am Leben befänden.

Sämtliche Gelatinekulturen blieben steril. (Die Laktobazillen wachsen bekanntlich durchaus nicht in zuckerfreier Gelatine.) Von den Milchkulturen koagulierten alle außer Yoghurt I und II, sowie Milch IV, welche tot waren. Die übrigen enthielten typische Laktobazillen in Reinkultur. Auch Streptococcus lacticus war am Leben.

[1]) Sörensen, Biochem. Zeitschr. Bd. 7, 1908, S. 45.

[2]) Henriques und Gjaldbäk, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 71, 1911, S. 511.

Nachdem das abgedunstete Wasser ersetzt war, wurde der Inhalt der Kolben filtriert, worauf durch Zusatz von Essigsäure in der Wärme untersucht wurde, ob das Filtrat aufgelöstes Kasein oder mit Essigsäure fällbare Umsetzungsprodukte von Bakterien enthielt. Dies war indessen nur der Fall bei Streptococcus lacticus; bei sämtlichen Laktobazillstämmen wurde mit Essigsäure keine Fällung erhalten.

In 25 ccm des Filtrats wurde der lösliche Totalstickstoff nach Kjeldahl bestimmt. In 50 ccm wurden die löslichen Eiweißstoffe mittels Phosphorwolframsäure gefällt; die Fällung wurde gewaschen und nach Kjeldahl verbrannt. Schließlich wurde der Ammoniakstickstoff durch Destillation von 50 ccm der nicht filtrierten Kultur mit MgO bestimmt.

Im Kontrollkolben wurde der Totalstickstoff durch Verbrennung von 10 g Milch nach Kjeldahl bestimmt, worauf das Kasein mit Essigsäure in der Wärme gefällt wurde. In dem Filtrat wurden die löslichen Eiweißstoffe und die mit Phosphorwolframsäure fällbaren Stoffe, wie vorhin beschrieben worden ist, und der Ammoniakstickstoff durch direkte Destillation von 50 ccm Milch mit MgO bestimmt.

Indem man von dem löslichen Totalstickstoff den löslichen Eiweißstickstoff und den Ammoniakstickstoff subtrahiert, erhält man den fast ausschließlich aus Monoaminosäuren bestehenden Zersetzungsstickstoff (S. N.).

Die Resultate dieser Untersuchungen gehen aus folgender Tabelle hervor, in welcher der Stickstoffgehalt überall in Prozenten des Totalstickstoffs der Milch ausgedrückt ist.

Tabelle VIII.

Stamm	Gefunden			Gebildet		
	L. N.	S. N.	A. N.	L. N.	S. N.	A. N.
Kontrolle	13,50	4,88	1,10	—	—	—
Str. lacticus	15,34	5,62	1,30	1,84	0,74	0,20
Yoghurt I	48,21	40,17	3,32	34,71	35,29	2,22
„ II	47,67	37,76	4,33	34,17	32,88	3,23
„ III	58,38	45,53	4,71	44,88	40,65	3,61
Milch I	50,35	40,17	4,12	36,85	35,29	3,02
„ II	46,60	33,48	2,89	33,10	28,60	1,79
„ III	48,75	38,03	4,76	35,25	33,15	3,66
„ IV	41,24	30,26	3,27	27,74	25,38	2,17
„ V	56,78	47,14	4,39	43,28	42,26	3,29
Bact. casei ε (1)	54,64	48,21	4,07	41,14	43,33	2,97
„ „ (2)	39,10	30,53	4,28	25,60	25,65	3,18

Wir ersehen aus der Tabelle, daß alle 10 Laktobazillenstämme mit einem kräftigen Kaseinspaltungsvermögen ausgestattet sind, während bei Streptococcus lacticus dieses Vermögen ganz unbedeutend ist. Weiter sehen wir, daß außer recht unbedeutenden Mengen von Ammoniak nur Aminosäuren durch die Spaltung des Kaseins gebildet worden sind, da die Summe von S. N. und A. N. in den meisten Fällen ebenso groß oder sogar noch größer ist als L. N.

Dies ist ja gerade das, was Orla-Jensen schon in betreff von Bact. casei α und ε gefunden hat. Durch unsere Versuche haben wir klargelegt, daß Laktobazillen im allgemeinen sich völlig ebenso verhalten, wie diese Freudenreichschen Käsebakterien, und hieraus folgt natürlich, daß sie alle imstande sein müssen, dieselbe Kaseinspaltung im Käse zu bewirken, wie Bact. casei α und ε.

Unsere Untersuchungen haben also eine weitere Stütze für die Ansicht von der außerordentlich großen Bedeutung der Laktobazillen für den Reifungsprozeß der Hartkäse ergeben.

Allerdings sind Einwendungen gegen diese Auffassung erhoben worden[1]), indem man geltend machte, daß der Milchzucker nach Orla-Jensens Untersuchungen schon nach einigen Tagen in der Käsemasse vollständig vergärt ist und sich in derselben nicht mehr nachweisen läßt, während die Abspaltung von Aminosäuren in einem weit späteren Stadium vor sich geht; aber Orla-Jensen hat hiergegen hervorgehoben[2]), daß die Laktobazillen durch ein Endoerepsin wirken, welches zur eigentlichen Wirkung erst nach dem Tode der Bakterien, und zwar durch Autolyse, gelangt. Solange ein Kohlehydrat (Milchzucker) sich gegenwärtig findet, entwickeln sich die Laktobazillen lebhaft in der Käsemasse, und die Mengen Erepsin, die sich währenddessen in deren Zellen aufgespeichert haben und während der Autolyse frei gemacht werden, bewirken in Verein mit dem Labenzym und in gewissen Käsen außerdem mit Unterstützung peptonisierender, Milchsäure bildender Kokken (Micrococcus casei liquefaciens) eine Umwandlung des Parakaseins und bringen hierdurch den Reifungsprozeß zustande.

---

[1]) Leichmann und Bazarewski, Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 6, 1900, S 245.

[2]) Eine ausgezeichnete Zusammenfassung der neuesten Resultate der Forschung hinsichtlich des Verlaufs des Reifungsprozesses des Käses findet sich in einem Vortrag, den Orla-Jensen in der Eröffnungssitzung des 5. internationalen Milchwirtschaftskongresses in Stockholm am 28. Juni 1911 gehalten hat und der außer in den Verhandlungen des Kongresses auch im Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 32, 1912, S. 202, veröffentlicht worden ist.

Agglutination.

Die immunodiagnostischen Methoden sind bisher außer in der medizinischen Bakteriologie kaum zur Anwendung gekommen, wenn man die Präzipitationsreaktionen für Eiweißdifferenzierung ausnimmt, die ja in der letzten Zeit in der forensischen Chemie, in der Nahrungsmittelkontrolle angewandt worden sind und die jetzt auch vielleicht Bedeutung für die Samenkontrolle erhalten werden.

Auf dem Gebiete der Landwirtschaftsbakteriologie kenne ich bisher nur einen Fall, in dem immunodiagnostische Methoden zur Anwendung gekommen sind, nämlich bei den Untersuchungen, die Zipfel[1]) vor kurzem über die Artverschiedenheit der Leguminosenbakterien ausgeführt hat und bei denen er Agglutinationsreaktionen anwandte. Die Agglutination ist ja, ebenso wie andere Serumreaktionen, eine durchaus spezifische und eignet sich daher vortrefflich zur Identifizierung oder Differenzierung von Bakterienarten und zwar umsomehr, als die hierbei anzuwendende Technik nicht sehr kompliziert ist, was hingegen bei den Komplementbindungsreaktionen der Fall ist.

Da ja schon von Anfang an vorauszusehen war, daß meine 10 Laktobazillenstämme nicht einer und derselben Art angehörten, wenn sie auch gewisse gemeinsame Gruppenmerkmale besaßen, und da die Verschiedenheiten bei der Untersuchung ihrer biochemischen Verhältnisse im großen ganzen diese Auffassung bestätigten, wenn diese Verhältnisse auch nicht mit Sicherheit eine Aufstellung von verschiedenen Arten zulassen, so benutzte ich zu diesem Zweck die Agglutination.

Die Laktobazillengruppe eignet sich sehr gut zur Anstellung solcher Reaktionen, da hierher gehörige Bakterien, wie aus Versuchen, über die weiter unten berichtet werden wird, hervorgeht, beträchtliche Mengen Agglutinin zu bilden vermögen. Da diese Bakterien sich indessen nur unbedeutend bei reichlichem Luftzutritt entwickeln, so kann hier nicht die gewöhnliche Methode zur Anwendung kommen, wo es gilt, Bakterienaufschwemmungen zu dem in Frage stehenden Zweck herzustellen. In den gewöhnlichen Fällen wird nämlich eine Platinöse der Bakterienmasse aus einer Strichkultur in Agar entnommen und in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Dieses Verfahren kann, wie gesagt, bei den Laktobazillen nicht angewandt werden, da diese auf der Oberfläche der Kulturen nicht wachsen. Daher wurden statt dessen bei unsern Versuchen Bouillonkulturen (Cibils Peptonbouillon + 1 % Dextrose) angewandt, in welchen sich sämtliche Stämme bei 37° gut entwickelten.

---

[1]) Zipfel, Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 32, 1912, S. 97.

Nach 24 oder höchstens 48 Stunden bei 37° waren diese Bouillonkulturen stets homogen und stark getrübt. Die Kultur, welche im allgemeinen 150 ccm ausmachte, wurde darauf in konischen Röhrchen in der Weise zentrifugiert, daß, nachdem sich das Sediment jedesmal in der Spitze des Röhrchens gut abgeschieden hatte, die darüber stehende Bouillon abgegossen und neue Kulturflüssigkeit zugefüllt wurde, bis die ganze Bakterienmasse in den Röhrchen angesammelt war. Nachdem die Bouillon zum letzten Male abgegossen war, wurde das Sediment in zusammen 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und intravenös Kaninchen eingespitzt. Beim Beginn der Versuche wurde bloß ein Bruchteil Sediment zur Einspritzung genommen; nachdem es sich aber herausgestellt hatte, daß man ohne größeren Nachteil große Mengen Bakterienmasse jeden dritten oder sogar jeden zweiten Tag einspritzen konnte, wurde stets das ganze, aus 150 ccm Bouillonkultur erhaltene Sediment, welches zusammen ungefähr 0,1—0,2 ccm ausmachte, genommen. Ein paar Kaninchen wurden gewöhnlich gleichzeitig auf diese Weise mit demselben Stamm immunisiert.

Bei der Ausführung der Agglutinationsprobe selbst wurde in der Weise verfahren, daß Serum von den immunisierten Kaninchen mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 5 verdünnt wurde. In die Agglutinationsröhrchen wurde zuerst 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung in jedes, ausgenommen in Nr. 2, gefüllt. Sodann wurde von der oben genannten Serumverdünnung in der Weise zugesetzt, daß Röhrchen Nr. 1 keinen Zusatz (Kontrollröhrchen), Nr. 2 1 ccm, Nr. 3 ebenfalls 1 ccm erhielt; von diesem letztgenannten Röhrchen wurde nun aber nach Vermischen 1 ccm entnommen und in Nr. 4 übergeführt usw. die Reihe hindurch. Aus dem letzten Röhrchen wurde ebenfalls 1 ccm entnommen und weggeworfen. Zu allen Röhrchen wurde nun 1 ccm 24 Stunden oder höchstens 48 Stunden alter Bouillonkultur (37°) von demjenigen Bakterienstamm zugesetzt, dessen Agglutinationsvermögen gegenüber dem in Frage stehenden Serum geprüft werden sollte. In sämtlichen Röhrchen befanden sich somit 2 ccm Flüssigkeit. Das Kontrollröhrchen enthielt nur physiologische Kochsalzlösung und Bouillonkultur, während alle andern Röhrchen außerdem Serum in folgenden Verdünnungen enthielten: 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40, 1 : 80, 1 : 160 usw.

Die Röhrchen wurden bei 37° auf $4^1/_2$—5 Stunden in den Thermostat gestellt und von Zeit zu Zeit untersucht. Darauf wurden die Röhrchen an einer kühlen Stelle stehen gelassen, bis die Sedimentierung bei den agglutinierenden Proben vollständig war und die darüber stehende Flüssigkeitsschicht sich völlig geklärt hatte. Die Agglutina-

tionsreaktionen waren stets sehr deutlich und scharf und ließen in keinem einzigen Fall Raum zu einigem Zweifel.

Yoghurt I-Serum. Dieses Serum agglutiniert Yoghurt I noch in der Verdünnung 1 : 1280, jedoch nicht in stärkeren Verdünnungen.

Milch I-Serum. Dieses Serum zeigte sich besonders aktiv, so daß es Milch I noch in der Verdünnung 1 : 10240 agglutinierte. Mit diesem Serum wurden die Stämme geprüft, die von Yoghurt I-Serum nicht agglutiniert worden waren.

Bact. casei ε (1)-Serum. Mittels dieses Serums, welches Bact. casei ε (1) in der Verdünnung bis 1 : 2560 agglutinierte, wurden schließlich die Stämme untersucht, die weder von Yoghurt I-, noch von Milch I-Serum agglutiniert worden waren.

Die Resultate sämtlicher Agglutinationsuntersuchungen gehen aus Tabelle IX hervor. + bedeutet hier deutliche Agglutination, (+) schwächere und — keine Agglutination.

Tabelle IX.

Serum	Stamm	1 : 10	1 : 20	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320	1 : 640	1 : 1280	1 : 2560	1 : 5120	1 : 10 240	1 : 20 480
Yoghurt I	Yoghurt I . .	+	+	+	+	+	+	+	(+)	—	.	.	.
	„ II . .	+	+	+	+	+	—	—	—	—	.	.	.
	„ III . .	+	+	+	+	+	+	—	—	—	.	.	.
	Milch I . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.	.	.
	„ II . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.	.	.
	„ III . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.	.	.
	„ IV . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.	.	.
	„ V . . .	+	+	+	+	+	(+)	—	—	—	.	.	.
	Bact. casei ε (1)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.	.	.
	„ „ (2)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.	.	.
Milch I	Milch I . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	—
	„ II . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	—	—	—
	„ III . . .	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	—	—	—
	„ IV . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Bact. casei ε (1)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	„ „ (2)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Bact. casei ε (1)	Bact. casei ε (1)	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	—	.	.
	„ „ (2)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.	.
	Milch IV . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.	.

Nach diesen Agglutinationsversuchen zu urteilen, würden also Yoghurt I, II und III, sowie Milch V derselben Art angehören, wie ihrerseits Milch I, II und III. Bact. casei ε (1) ist nicht identisch mit Bact. casei ε (2). Dieser letztere Stamm und Milch IV wurden von keinem der drei Sera agglutiniert. Diese beiden Stämme können also möglicherweise miteinander identisch sein, aber ebenso möglich ist es, daß sie voneinander verschiedene Arten sind. Sie sind indessen nicht identisch mit irgendwelchen der übrigen Stämme.

* * *

Interessant ist es ja, zu ersehen, daß sämtliche Yoghurtstämme, sowie Milch V eine besondere Gruppe bilden. Dies berechtigt uns also, die Yoghurtbakterien als eine ganz und gar freistehende Art innerhalb der Gruppe der Laktobazillen anzusehen, wie es sich denn zugleich erwiesen hat, daß Repräsentanten dieser Art auch in gewöhnlicher Milch zu finden sind[1]). Eigentümlich wäre es ja übrigens gewesen, wenn es sich herausgestellt hätte, daß diese Art ausschließlich in Sauermilchpräparaten aus bestimmten Ländern anzutreffen sein sollte.

Hinsichtlich der Nomenklatur wäre es wohl am geeignetsten, für diese Yoghurtbakterien die bisherige Benennung beizubehalten, während jedoch der Name Bacillus gegen Bacterium ausgetauscht werden muß, da ja Bacillus nach den gegegenwärtig befolgten Nomenklaturregeln eine sporenbildende, stabförmige Bakterie bezeichnet. Also Bacterium bulgaricum statt Bacillus bulgaricus.

Die aus Milch isolierten Stämme Milch I, II und III, welche nach den Agglutinationsreaktionen eine Art für sich bilden und auch hinsichtlich ihres Verhaltens gegenüber gewissen Kohlehydraten und hinsichtlich des Aussehens ihrer Kolonien in Laktoseagar sich in charakteristischer Weise von den andern Stämmen unterscheiden, sollten also eigentlich auch einen Namen für sich haben, ebenso wie auch Bact. casei ε (1) und Milch IV, aber ich glaube nicht, daß man durch eine solche Einteilung viel gewinnen würde. Einerseits unterliegt es ja keinem Zweifel, daß man durch fortgesetzte Untersuchungen aus Milch und Molkereiprodukten weiterhin manche neue Arten wird isolieren können, welche dann also neue Namen erforderlich machen würden, anderseits sind ja die bisher untersuchten Laktobazillen in morphologischer und biologischer Hinsicht

[1]) Bei später vorgenommenen Agglutinationsversuchen mit einem neuen, aus pasteurisierter Magermilch zu Alnarp isolierten Laktobazillus hat es sich gezeigt, daß auch dieser zu den echten Yoghurtbakterien gehört.

einander soweit ziemlich ähnlich, daß man sie wenigstens bis auf weiteres ohne einen eigentlichen Nachteil unter einem gemeinsamen Gruppennamen zusammenfassen kann, wie dies auch bei der anderen großen Hauptgruppe der echten Michsäurebakterien der Fall ist, die ja jetzt ziemlich allgemein unter der Benennung Streptococcus lacticus zusammengefaßt wird. Ein von verschiedenen Gesichtspunkten aus geeigneter Gruppenname dürfte wohl die mehrfach angewandte Bezeichnung Bacterium casei[1]) sein. Der Name Bacterium caucasicum, der von Beijerinck[2]) schon 1889 angewandt wurde, um einen aus Kefir reingezüchteten, typischen Laktobazillus zu bezeichnen, hat ja allerdings die Priorität für sich, ist aber meiner Meinung nach nicht wirklich geeignet, da er ja ursprünglich nur eine ganz spezielle Art innerhalb der Gruppe bezeichnet. Mit Rücksicht auf die außerordentlich große Rolle, die die Laktobazillen ohne Zweifel bei der Käsereifung (besonders bei der Reifung der Hartkäse) spielen, möchte der Name Bacterium casei als Gruppenname wohl an seinem Platze sein[3]).

Um aber einige Bezeichnungen zu haben für die von mir studierten Arten untereinander, schlage ich vor, Milch I, II und III als Bacterium casei A, Milch IV als Bacterium casei B und Bact. casei ε (2), der ja nicht mit Bact. casei ε (1) identisch ist, als Bact. casei C zu bezeichnen. Diese Benennungen brauchen ja nicht mit den v. Freudenreichschen verwechselt zu werden, da v. Freudenreich sich ja des griechischen Alphabets bedient[4]).

An den im Vorhergehenden beschriebenen Untersuchungen hat sich der Assistent des Laboratoriums, Herr E. Sandberg, beteiligt.

Erklärungen zu den Tafeln.

Tafel I.

Fig. 1: Kolonie von Bacterium casei A (Milch I) in Laktoseagar nach 3 Tagen bei 37°.
Fig. 2: Bact. casei ε (1). Kolonie in Laktoseagar nach 3 Tagen bei 37°.
Fig. 3: Bact. bulgaricum (Yoghurt I). Kolonie in Laktoseagar nach 3 Tagen bei 37°.
Fig. 4: Bact. bulgaricum (Yoghurt III). Kolonie in Laktoseagar nach 3 Tagen bei 37°.

---

[1]) Sowohl v. Freudenreich als auch Leichmann und v. Bazarewski haben diesen Namen angewandt.

[2]) Beijerinck, Arch. neerlandaises. T. XXIII, 1889, S. 428.

[3]) Bezüglich der Nomenklaturfrage siehe auch Löhnis, Centralbl. f. Bakt., II. Abt. Bd. 18, 1907, S. 97.

[4]) Bact. casei A, B und C sind in Kråls Bakteriologischem Museum, Wien IX, Zimmermanngasse 3, zu haben, da ich diesem Institute meine Originalkulturen überlassen habe.

Tafel II.

Fig. 1: Bact. bulgaricum (Yoghurt I). Kultur in Milch, 24 Stunden bei 43°.
Fig. 2: Bact. bulgaricum (Yoghurt III). Kultur in Milch, 24 Stunden bei 43°.
Fig. 3: Bact. casei A (Milch I). Kultur in Milch, 24 Stunden bei 43°.
Fig. 4: Bact. casei ε (1). Kultur in Milch, 24 Stunden bei 43°.
Fig. 5: Bact. casei ε (2). Kultur in Milch, 24 Stunden bei 43°.

Einwirkung des Cyklamins auf die alkoholische Gärung.

Von **Johan Lundberg.**

(Aus dem Laboratorium für allgemeine und organische Chemie der Universität in Stockholm.)

(Mit 5 Figuren.)

Einleitung.

Im Anfang einer Untersuchung über einen Repräsentanten aus der großen Saponingruppe, das Cyklamin, nahm ich mir vor, eine seiner physiologischen Eigenschaften zu studieren, und zwar habe ich die Einwirkung auf Hefe oder vielmehr auf die alkoholische Gärung mit lebender Hefe zum Studium gewählt.

Kobert schlägt in seinem „Lehrbuch der Intoxikationen" vor, an allen physiologisch interessanten Substanzen zuerst ihre Wirkung auf Hefe zu untersuchen. Hier sind die Bedingungen sehr einfach, und gleichzeitig kann man die Wirkungen nach verschiedenen Richtungen hin prüfen. Die Frage, wie und in welcher Konzentration die betreffende Substanz wirkt, kann natürlich ungemein schärfer beantwortet werden, wenn man es mit einer Wirkung auf einzellige, einander sehr gleiche Organismen zu tun hat. Besonders wenn es sich um Protoplasmagifte handelt, kann man sicher manche wichtige Analogien finden, wenn man auch nicht erwarten kann, daß die Art und Intensität der Wirkung für Hefezellen und höhere Organismen völlig identisch sei.

Wie eine physiologisch wirksame Substanz sich zur Hefe verhält, darüber können viele ihrer Lebensfunktionen Aufschluß geben. Man kann sowohl Wachstum und Vermehrung, Veränderung des Stickstoffgehaltes und Glykogenbildung als auch die fermentative Tätigkeit verfolgen. Gewisse dieser Faktoren stehen jedoch zu anderen in enger Beziehung. Im allgemeinen begnügt man sich damit, die Einwirkung auf die Gärung

zu beobachten. Auch diese Untersuchung ist auf die Zymasetätigkeit begrenzt worden, obwohl der Verfasser von dem großen Wert einer umfassenden Untersuchung überzeugt ist.

Namentlich in den letzten Jahren sind eine große Anzahl Arbeiten über den Einfluß chemischer Substanzen auf Hefe und Gärtätigkeit ausgeführt worden. Auf die Resultate derselben kann hier nicht eingegangen werden. Unter allen diesen Untersuchungen ist meines Wissens keine einzige mit irgend einem Repräsentanten aus der großen Gruppe der Saponine vorgenommen worden. Diese eigenartigen Substanzen sind jedoch von hervorragendem Interesse, nicht nur weil sie in der Pflanzenwelt sehr verbreitet sind, sondern vielleicht noch mehr infolge ihrer ausgeprägten Protoplasmawirkungen, besonders der hämolytischen Eigenschaften.

Methodisches.

Um den Verlauf der Gärung zu verfolgen, wurde die Kohlensäure volumetrisch bestimmt. Nebst der von Schultz[1]) empfohlenen und von Slator[2]) angewandten Methode, die Kohlensäureentwicklung durch die Druckzunahme auf einen Manometer zu beobachten, ist wohl die volumetrische die einzige, die den Gärungsverlauf mit kurzen Intervallen zu verfolgen gestattet. Die Kohlensäure gravimetrisch zu messen, wäre ungeeignet und der Veränderung der optischen Drehung, die einige Forscher anwenden, kann, worauf Euler[3]) hingewiesen hat, nach den letzten Theorien über den Gärungsmechanismus, Zuverlässigkeit nicht zuerkannt werden. Die Gärflüssigkeit befand sich in Erlenmeyerkolben von 100 ccm, die in einen Ostwaldschen Thermostaten eintauchten. Die Kolben waren durch Kapillarröhren mit dem oberen Ende der Gasbüretten verbunden. Wie gewöhnlich wurde Quecksilber als Absperrungsflüssigkeit in den Büretten angewandt. Die Gärung ging bei Unterdruck vor sich. Die Temperatur des Thermostaten wurde bei $30^{0} + 0{,}2^{0}$ gehalten. Die Lufttemperatur, die auf das Gasvolumen Einfluß haben konnte, wurde beobachtet, aber zeigte gewöhnlich eine genügende Konstanz, um vernachlässigt werden zu können.

Die Versuche wurden mit untergäriger Hefe der St. Eriks Brauerei angestellt. Durch Waschen bis zum Klarwerden der obenstehenden Flüssigkeit wurde die Hefe gereinigt und dann abgepreßt. In jeden

---

[1]) H. Schultz, Arch. d. ges. Physiol., Bd. 42, 1888, S. 517.

[2]) A. Slator, Journ. Chem. Soc., Bd. 89, 1906, S. 128.

[3]) H. Euler, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 73, 1911, S. 85; H. Euler und D. Johansson, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 76, 1912, S. 347.

Kolben wog ich 0,5 g ab; ein paar Versuche wurden mit nur 0,25 g angestellt. Als Gärsubstrat diente zehnprozentige Rohrzuckerlösung.

Firma Merck, Darmstadt, hat in zuvorkommender Weise dem hiesigen Institut das angewandte Cyklamin zu ermäßigtem Preise überlassen. Es stellte ein nahezu rein weißes, undeutlich kristallinisches Pulver dar, und zeigte die von Kobert angegebenen Reaktionen. Die wässerigen Lösungen waren ein wenig opalisierend, wenigstens wenn die Konzentration über 2 % stieg.

Gewöhnlich waren vier parallele Versuche im Gange, zwei ohne und zwei mit Saponinzusatz oder zwei mit einer gewissen Giftkonzentration und zwei mit einer anderen. Die abgewogene Hefe wurde in den Kolben gebracht, 20 ccm auf 30° erwärmte Zuckerlösung und entweder 5 ccm Wasser oder 5 ccm Cyklaminlösung zugesetzt und kräftig umgeschüttelt (Abweichungen von dieser Methodik werden bei den betreffenden Stellen angegeben). Die Kolben standen dann ein paar Minuten im Wasserbad, wurden hierauf nochmals geschüttelt, um die überschüssige Kohlensäure zu vertreiben, und mit den Gasbüretten verbunden. Die Ablesungen der Kohlensäureentwicklung wurden unter Atmosphärendruck und nach kräftigem Schütteln der Kolben vorgenommen.

Gärung mit lebender Hefe.

Um eine exakte Auffassung über die Wirkungsweise einer chemischen Substanz auf die alkoholische Gärung zu gewinnen, ist es nötig, die unvergiftete Gärung und die Faktoren, die auf diese in einem gewöhnlichen Gärungssystem einwirken, verfolgen zu können. Der Mechanismus der Gärung ist indessen ein Problem, das erst jetzt sich seiner Lösung zu nähern scheint, und daher hat man sich keine klare Vorstellung verschaffen können, warum und wie die Gärungsgeschwindigkeit sich mit der Zeit ändert. Ich habe hier versucht, einige Fragen zu beantworten, die für einen Vergleich zwischen der unvergifteten und der vergifteten Gärung von Wichtigkeit sind. Die Fragen, die man sich vorlegen muß, sind die folgenden:

1. Wie ist die Gärung von der Konzentration der Hefe abhängig?

2. Wie ist die Gärung von der Konzentration des Zuckers abhängig?

3. Wie ist die Gärung von den Gärungsprodukten abhängig?

4. Wie und warum ändert sich die Zymasewirkung einer bestimmten Hefemenge ceteris paribus mit der Zeit?

Auf die erste Frage lautet die Antwort: Die Gärungsgeschwindigkeit ist der Hefemenge proportional[1]).

Wie die Gärungsgeschwindigkeit von der Zuckerkonzentration abhängt, ist von vielen Forschern untersucht worden; die Unsicherheit ist aber hier am größten. Einige haben versucht, die Gärungsdauer zu bestimmen, u. a. Dumas[2]) und A. Fischer[3]) und nahmen diese als der Konzentration proportional an. Tammann[4]), Brown[5]) und O'Sullivan behaupten, daß die Kohlensäureentwicklung innerhalb weiter Grenzen der Zuckerkonzentration der Zeit proportional ist. Einige Forscher, welche die Dynamik der Gärung studiert haben, sind zu Formeln gelangt, die den tatsächlichen Verlauf mitunter, aber nicht immer leidlich gut wiedergeben. In diesen Formeln ist die Gärungsgeschwindigkeit eine Funktion der anwesenden Zuckermenge. So haben zuerst Aberson[6]) und nachher Herzog und Saladin[7]) die von Henri aufgestellte Formel $\frac{1}{t} \log \frac{a + x}{a - x} = k$ benutzt. Dabei hat man stillschweigend angenommen, daß die Zymasewirkung der Hefe während des Verlaufes der Gärung konstant ist. Slator[8]) untersuchte die Anfangsgeschwindigkeit der Gärung und zeigte, daß diese in Lösungen mit einer Zuckerkonzentration von 0,5 bis 10 % von dieser Konzentration wenig abhängig war. Um diese Eigentümlichkeit zu erklären, nahm Slator an, daß der Zucker mit dem Enzym eine Verbindung eingeht. Wenn bei einer gewissen Zuckerkonzentration der größte Teil des Enzyms gebunden ist, so wird eine Steigerung der Konzentration des Zuckers die Reaktion wenig beeinflussen. Unterhalb der besprochenen Konzentration bleibt ein Teil des Enzyms unverbunden und also ohne Wirkung; die Geschwindigkeit wird kleiner. Durch die Forschungen über den Gärungsmechanismus sind in der letzten Zeit andere Tatsachen hinzugekommen, die für eine intermediäre Bindung von Zucker mit dem Enzym oder mit einem Teil des Enzymkomplexes sprechen. In meinen Versuchen variiert nun der Zuckergehalt zwischen 8 und 3 %. Die Änderung der Zuckerkonzentration sollte folglich keinen Einfluß auf die Gärwirkung ausüben.

---

[1]) O. Sullivan, Chem. Zentralbl., Bd. II, 1898, S. 454; Slator, Journ. Chem. Soc., Bd. 89, 1906, S. 128.

[2]) Dumas, Ann. chim. phys., Bd. III [5], 1874, S. 57.

[3]) Fischer, Nach Kohl. Die Hefepilze. Leipzig, 1908, S. 130.

[4]) Tammann, Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. 3, 1889, S. 35.

[5]) Brown, Journ. Chem. Soc., Bd. 61, 1892, S. 369.

[6]) Aberson, Rec. trav. chim. Pays-Bas, Bd. 22, 1903, S. 78.

[7]) Herzog und Saladin, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 73, 1911, S. 263.

[8]) Slator, Journ. Chem. Soc., Bd. 89, 1906, S. 128.

Unter den Gärungsprodukten treten nur die Kohlensäure und der Alkohol in so beträchtlichen Mengen auf, daß von einem merklichen Einfluß auf die Gärung gesprochen werden kann. Weil der Kohlensäuredruck während der Reaktion sowohl bei der unvergifteten als bei der vergifteten Gärung nahezu gleich ist und die Lösung schnell mit Kohlensäure gesättigt wird, so kann man von ihrer Wirkung absehen. Der Alkohol dagegen muß bei der schneller verlaufenden unvergifteten Gärung in größerer Menge auftreten, als es bei dem verzögerten Vorgang der Fall sein kann. Aber eine erhebliche Wirkung ist ihm nicht zuzuschreiben. Die Gärung ging bei meinen Versuchen so weit, daß in der letzten Stufe nicht mehr als 2—3 % Alkohol gebildet worden sein können. Erst in dieser Konzentration zeigt der Alkohol eine auf die Gärung nachteilige Wirkung.

Wie oben hervorgehoben wurde, scheint die Gärungsgeschwindigkeit von der Zuckerkonzentration unabhängig zu sein. Während des Verlaufs der Gärung nimmt nun das Verhältnis $d(CO_2)/dt$ ab. Dies muß darauf beruhen, daß die Hefe allmählich zugrunde geht oder wenigstens ihre enzymatische Wirkung verliert. Versuche, die direkt zum Ziel gehabt haben, die Änderung der Gärkraft der Hefe mit der Zeit zu untersuchen, sind meines Wissens nicht ausgeführt. Es gibt jedoch Untersuchungen, aus denen man Schlüsse ziehen kann, wie die Hefe und die Gärkraft sich in meinen Versuchen ändern. Es sei eine solche von Buchner und Rapp[1]) erwähnt. Zu einer 9,68prozentigen Rohrzuckerlösung wurde rein kultivierte untergärige Bierhefe zugesetzt und die Zellenzahl pro Kubikzentimeter bestimmt. Ein Teil dieser Lösung vergor im Luftstrom, ein anderer Teil im Wasserstoffstrom. Nach 3 Stunden wurde die Zellenzahl und der gebildete Alkohol bestimmt. Es zeigte sich, daß bei der Gärung in Luft die Anzahl der Zellen vermehrt war, in Wasserstoff etwas vermindert und im übrigen war im vorigen Falle mehr Alkohol gebildet. Bei Sauerstoffabwesenheit scheint also die Gärung zurückgegangen und die Vermehrungsfähigkeit verschwunden zu sein. Bei den hier mitgeteilten Versuchen hat die Gärung in geschlossenem Gefäß stattgefunden, wobei schnell Sauerstoffmangel entsteht. Dagegen wird die Gärflüssigkeit mit Kohlensäure gesättigt. Delbrück[2]) hat gezeigt, daß diese der Vermehrung der Zellen entgegenwirkt und die Gärung schädigt. Daß $d(CO_2)/dt$ abnimmt, beruht also wahrscheinlich zum großen Teil darauf, daß die Gärkraft der Hefe abnimmt.

---

[1]) Buchner und Rapp, Zeitschr. f. Biol., Bd. 37, 1899, S. 82.

[2]) Delbrück, Nach Kohl, Die Hefepilze. Leipzig 1908, S. 222.

Erklärung der Giftwirkung.

Schon oben ist hervorgehoben worden, daß als Folge der Vergiftung die zwei Gärungssysteme, das unvergiftete und das vergiftete, bald beträchtliche Verschiedenheiten betreffs der Konzentration des Zuckers und der Gärprodukte darbieten. Es wurde aber auch gezeigt, daß diese Verschiedenheiten bei meinen Versuchen nicht derart sind, daß sie beim Vergleich der beiden Prozesse in Betracht gezogen zu werden brauchen. Die zwei parallel verlaufenden Reaktionen dürften also unter gleichen Bedingungen verlaufen. Die Definition ist dann gegeben: die Giftwirkung ist die durch das Gift bewirkte relative Herabsetzung derjenigen Zymasewirkung, die die Hefe gezeigt hätte, wenn kein Gift zugefügt worden wäre. Ist zur Zeit T vom Anfang der Gärung an gerechnet die in der Zeiteinheit entwickelte Kohlensäuremenge v_1 für den unvergifteten und v_2 für den vergifteten Prozeß, so ist $\frac{v_1 - v_2}{v_1}$ die Vergiftung und v_2/v_1 der Teil der Hefe, der unvergiftet geblieben ist. Das letztere Verhältnis wird hier benutzt.

Um die zur Zeit T in der Zeiteinheit entwickelte Kohlensäuremenge aus den Tabellen zu berechnen, sucht man aus zwei sukzessiven Ablesungen der Kohlensäureentwicklung a_1 und a_2 zur Zeit t_1 bezw. t_2 die mittlere Geschwindigkeit $\frac{a_2 - a_1}{t_2 - t_1}$. Diese kann dann als zur Zeit $T = \frac{t_1 + t_2}{2}$ geltend angesehen werden. Aus den zwei Parallelversuchen wird dann das Mittel v genommen. Weil v_1 weniger als v_2 von der Zeit abhängig ist, so kann man v_2/v_1 für die Zeit, welche der Geschwindigkeit v_2 entspricht, gelten lassen.

Cyklaminkonzentration und Giftwirkung.

Mehrere Gifte zeigen bei kleinen Konzentrationen stimulierende Wirkung auf den Organismus. Besonders in bezug auf die alkoholische Gärung sind eine Anzahl Versuche ausgeführt worden, die diese Tatsache beweisen. Diese Beschleunigung der Gärungsgeschwindigkeit tritt zu Beginn der Gärung am meisten hervor. Nach Kobert „Lehrbuch der Intoxikationen“ zeigen auch die Saponine eine solche Wirkung auf Protoplasma. Falls das Cyklamin einen solchen Einfluß ausübt, müßte dies bei sehr kleinen Konzentrationen eintreten. Bei einer Konzentration von nur 0,02 % zeigte sich im Anfang noch keine deutliche Veränderung der Kohlensäureentwicklung, wohl aber nach zwei Stunden und zwar machte sich dann eine Abnahme bemerkbar.

Die Konzentration des Cyklamins ist also immer innerhalb der Grenzen der toxischen Dosis gewesen. Wie vorher erwähnt worden ist, wurden 5 ccm Cyklaminlösung 20 ccm Zuckerlösung zugefügt. Die Prozentgehalte der Giftlösung variierten von 0,1 bis 5 % und betrugen 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 1, 2 und 5 %. Die Saponinmengen der Gärflüssigkeit waren also 0,005, 0,01, 0,015, 0,025, 0,05, 0,1 und 0,25 g. Die Gärungsgeschwindigkeiten bei den vier niedrigeren Giftkonzentrationen wurden mit denen der unvergifteten verglichen. Die Ablesungen der Kohlensäureentwicklung bei 0,05 g Saponin wurden mit denen bei 0,025 g und diejenigen bei 0,1 und 0,25 g mit denen bei 0,05 g verglichen. Zur Kontrolle sind im allgemeinen zwei Versuche für jede Konzentration ausgeführt. Nur für den einen Versuch sind die Tabellen beigefügt.

Tabelle I.

0,005 g Cyklamin				Ohne Cyklamin			
Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm
21	17,0	20	17,6	18	16,4	15	13,1
53	41,5	52	41,7	51	41,7	48	38,0
84	62,5	83	64,0	81	64,6	78	61,6
132	96,2	131	98,0	129	99,7	127	94,9
164	115,7	162	118,2	160	121,0	157	115,8
202	137,9	202	140,2	201	148,0	198	143,3
259	166,0	254	168,0	253	182,5	250	176,3
299	184,9	302	191,2	301	211,7	299	206,0
383	221,9	382	227,2	381	255,9	378	250,1

Tabelle II.

0,01 g Cyklamin				Ohne Cyklamin			
Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm
23	17,8	20	16,2	21	16,2	29	24,0
53	40,2	51	38,5	48	37,0	49	40,0
83	60,0	82	60,7	79	60,0	78	62,0
135	89,8	133	92,2	130	96,3	129	97,2
178	109,2	176	113,1	173	124,6	172	126,1
219	120,9	217	126,0	215	151,6	215	152,9
270	129,8	268	137,9	265	182,6	265	183,5
315	134,2	312	143,5	311	207,8	309	209,7
375	140,2	373	150,0	372	241,7	370	243,2
404	142,9	401	152,8	398	256,5	397	257,3

Tabelle III.

0,015 g Cyklamin				Ohne Cyklamin			
Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm
25	17,4	25	18,0	23	17,9	25	18,7
60	34,8	60	37,0	56	41,8	56	40,1
85	48,6	85	50,2	82	58,8	82	57,5
108	58,1	108	60,7	105	74,0	105	73,3
158	73,2	157	78,6	155	107,6	156	106,9
216	82,9	214	89,2	211	142,6	211	141,0
267	84,8	268	93,0	267	176,3	268	175,9
314	85,8	313	95,0	313	202,6	310	199,9
344	86,3	342	95,7	339	216,6	339	216,2
389	87,1	383	96,5	383	239,1	383	238,1

Tabelle IV.

0,025 g Cyklamin				Ohne Cyklamin			
Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm
56	28,1	54	29,0	53	37,0	52	37,2
87	40,7	85	41,1	85	59,4	85	60,6
140	56,3	138	57,4	137	95,2	137	96,5
182	61,6	186	63,0	180	120,6	180	123,7
225	64.0	222	66,0	221	144,7	219	146,8
342	65,4	339	67,6	329	204,7	331	208,7

Tabelle V.

0,05 g Cyklamin				0,025 g Cyklamin			
Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm
28	15,6	21	12,9	21	13,3	19	14,2
47	23,3	40	20,9	40	22,2	38	22,9
72	31,6	65	29,0	65	31,2	64	33,0
105	40,4	98	37,0	98	42,1	95	42,5
146	47,5	139	43,7	138	50,9	136	51,7
202	50,9	194	46,9	195	56,2	197	55,5
304	51,8	298	48,0	297	57,0	295	57,2

Tabelle VI.

0,05 g Cyklamin				0,1 g Cyklamin			
Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm
23	19,4	21	16,4	18	13,3	22	22,4
42	29,4	40	26,4	37	24,1	40	32,4
64	37,5	62	35,8	59	33,3	63	41,1
87	45,5	85	44,3	82	40,8	86	48,3
143	55,7	141	56,0	139	53,9	143	59,4
205	61,5	203	64,0	200	60,0	205	64,7
272	63,0	270	65,9	266	61,6	269	66,0
326	63,4	325	67,6	323	62,0	326	66,9

Es ist von wenig Interesse, die Beobachtungen der Gärung mit 0,25 g Cyklamin anzugeben. Es wurde dieselbe absolute Kohlensäuremenge wie mit 0,05 g erhalten und übrigens verliefen die beiden Gärungen vollkommen parallel.

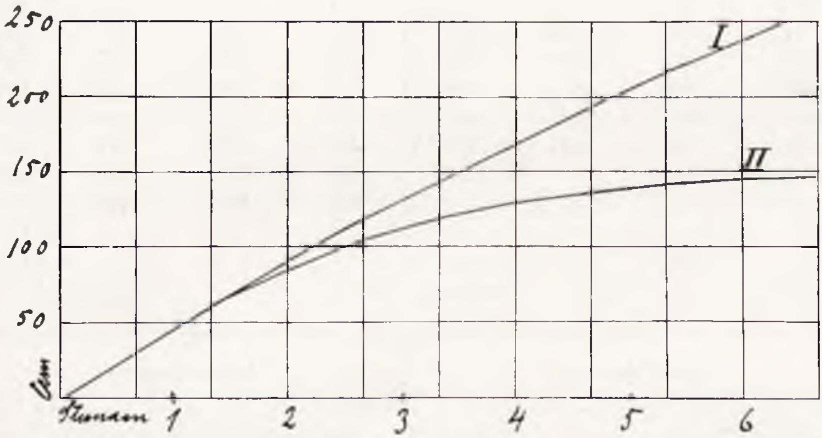


Fig. 1.

Um das typische Aussehen von Kurven zu zeigen, die angeben, wie die Kohlensäuremenge bei parallel verlaufender unvergifteter und vergifteter Gärung mit der Zeit zunimmt, werden die Zahlen der Tabelle II in Fig. 1 graphisch dargestellt. Die Zeit ist als Abszisse, die Kohlensäuremenge als Ordinate angegeben. Das Mittel aus den zwei Parallelversuchen der unvergifteten Gärung wird durch Kurve I, das Mittel bei der vergifteten Gärung durch Kurve II ausgedrückt.

Bei verschiedenen Giftkonzentrationen weichen die unteren Kurven ungleich schnell von den oberen ab. Indessen tritt in diesem Diagramm die Veränderung der Gärungsgeschwindigkeit nicht mit wünschenswerter Deutlichkeit hervor. Es dürfte besser sein, die Tangente dieser Kurven mit der Zeit zu verfolgen. Die vorher definierte Größe v stellt diese Tangente vor. (Aus den Tabellen I bis III und aus den Kontrollversuchen werden also v_1, v_2 und v_2/v_1 tabellarisch zusammengestellt.)

Tabelle VII.

Aus Tabelle I				Kontrollversuch			
Min.	v_1	v_2	v_2/v_1	Min.	v_1	v_2	v_2/v_1
10	0,89	0,84	0,95	10	0,85	0,86	1,01
36	0,76	0,76	1,00	36	0,76	0,75	0,99
67	0,77	0,70	0,91	71	0,73	0,70	0,96
107	0,70	0,70	1,00	111	0,70	0,70	1,00
147	0,70	0,63	0,90	150	0,73	0,68	0,93
182	0,67	0,56	0,84	187	0,64	0,57	0,89
229	0,64	0,51	0,80	223	0,66	0,58	0,88
278	0,61	0,47	0,77	260	0,61	0,50	0,82
341	0,55	0,44	0,80	294	0,60	0,47	0,78
				338	0,57	0,43	0,75
				385	0,53	0,48	0,91

Tabelle VIII.

Aus Tabelle II				Kontrollversuch			
Min.	v_1	v_2	v_2/v_1	Min.	v_1	v_2	v_2/v_1
11	0,80	0,79	0,99	10	0,73	0,79	1,08
36	0,78	0,73	0,94	32	0,70	0,64	0,90
67	0,75	0,68	0,91	60	0,68	0,64	0,94
108	0,70	0,59	0,84	105	0,64	0,58	0,91
155	0,66	0,47	0,71	149	0,66	0,46	0,70
197	0,63	0,30	0,476	189	0,61	0,296	0,485
243	0,61	0,203	0,333	255	0,55	0,132	0,240
291	0,57	0,112	0,196	312	0,57	0,164	0,288
343	0,56	0,103	0,184	352	0,52	0,097	0,186
388	0,54	0,096	0,178	394	0,49	0,074	0,151

Tabelle IX.

Aus Tabelle IV				Kontrollversuch			
Min.	v_1	v_2	v_2/v_1	Min.	v_1	v_2	v_2/v_1
12	0,76	0,71	0,93	9	0,81	0,73	0,90
42	0,70	0,52	0,74	38	0,68	0,48	0,70
72	0,66	0,54	0,82	75	0,62	0,42	0,68
96	0,68	0,43	0,63	114	0,65	0,32	0,49
132	0,66	0,335	0,51	160	0,63	0,22	0,35
186	0,62	0,176	0,284				
241	0,60	0,052	0,087	Wurde infolge eines Unfalles abgebrochen			
290	0,57	0,031	0,054				
328	0,55	0,021	0,038				
364	0,50	0,019	0,038				

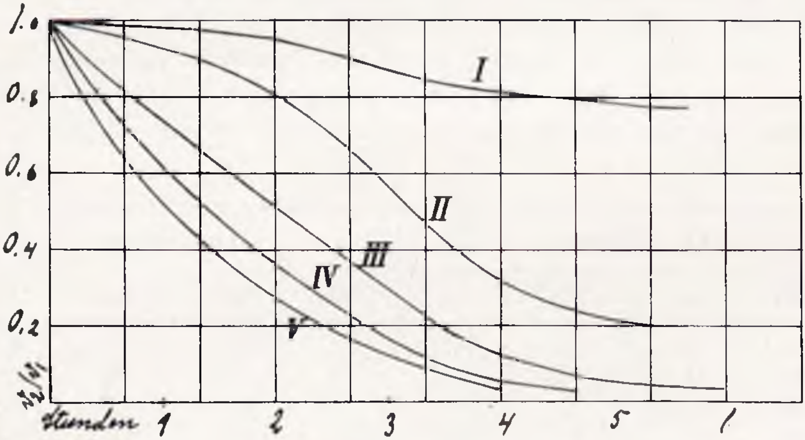


Fig. 2.

v_2/v_1 wird auch in Kurvenform für alle Giftzusätze von 0,005 bis 0,05 g durch Fig. 2 angegeben. Diese Kurven zeigen am besten, wie das Vergiftungsbild sich mit der Konzentration ändert. Die zwei Reihen Werte für v_2/v_1 in den Tabellen VII bis IX sind durch die Kurven I bis III wiedergegeben. Die Kurve IV ist aus Tabelle IV genommen und die Kurve V wird dadurch gebildet, daß die Ordinaten von Tabelle IV mit dem Verhältnis zwischen den beiden Vergärungsgeschwindigkeiten in Tabelle V multipliziert werden.

Fig. 2 zeigt, daß bei den Bedingungen, unter denen der Versuch ausgeführt wurde, eine 0,02 prozentige Cyklaminlösung, also 0,005 g Gift, beinahe 2 Stunden braucht, um eine deutliche Einwirkung zu zeigen.

Die Vergiftung nimmt dann während ein paar Stunden zu, um sich schließlich einem Grenzwert zu nähern, der zwischen 0,7 und 0,8 von der Zymasewirkung der unvergifteten Hefe liegt. Wird die Giftmenge verdoppelt, so zeigt sich der schädliche Einfluß zwar schneller, aber erreicht erst nach 3 Stunden sein Maximum, um nachher abzunehmen. Der Vorgang wird durch eine Wendepunktskurve beschrieben. Steigt die Cyklaminkonzentration noch mehr, so tritt das Maximum der Vergiftungsgeschwindigkeit immer früher ein. Ist die Menge des Giftes über 0,025 g gestiegen, so hat weiterer Zusatz wenig Wirkung, über 0,05 g tritt gar keine Zunahme der Wirkung ein.

Hefemenge und Giftwirkung.

Bevor ich versuche, das eben Referierte näher zu besprechen, dürfte es angemessen sein, einen Bericht über einige andere Versuche zu liefern. Zunächst werden die oben erwähnten Versuche mit 0,25 g Hefe beschrieben, Sie wurden unter sonst gleichen Verhältnissen wie die früheren ausgeführt. Die Cyklaminmenge war 0,01 g. Die Originaltabellen und eine Tabelle über v_1, v_2 und v_2/v_1 werden mitgeteilt.

Tabelle X.

0,01 g Cyklamin				Ohne Cyklamin			
Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm
16	5,3	16	6,0	16	6,0	16	6,0
33	11,1	33	11,2	32	11,6	32	12,0
50	15,2	50	15,5	50	18,0	50	17,6
165	33,7	166	34,3	170	53,2	170	53,2
214	36,2	214	37,1	212	63,7	212	64,0
271	36,9	271	37,6	271	78,0	271	77,5
334	37,3	334	38,0	333	91,2	333	89,4

Tabelle XI.

0,01 g Cyklamin				Ohne Cyklamin			
Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm
31	9,4	30	9,9	31	11,2	30	12,8
59	15,5	58	16,0	59	20,1	59	21,5
109	23,3	109	23,9	110	35,1	110	36,8
168	27,7	170	28,0	172	51,0	173	52,1
238	28,9	238	29,0	240	65,3	240	66,3
295	29,1	294	29,1	295	77,0	295	78,0

Tabelle XII.

Aus Tabelle X				Aus Tabelle XI			
Min.	v_1	v_2	v_2/v_1	Min.	v_1	v_2	v_2/v_1
8	0,37	0,35	0,95	15	0,39	0,31	0,80
24	0,36	0,32	0,89	44	0,31	0,22	0,71
41	0,33	0,25	0,74	83	0,29	0,155	0,53
108	0,295	0,162	0,55	138	0,25	0,071	0,28
189	0,253	0,054	0,21	203	0,21	0,016	0,079
242	0,235	0,010	0,043	266	0,21	0,003	0,014
362	0,202	0,006	0,029				

In untenstehender Figur 3 stellt die gezogene Kurve I das Verhältnis v_2/v_1 der Tabelle XII dar. Die punktierten Kurven II, III und IV sind aus Figur 2 genommen.

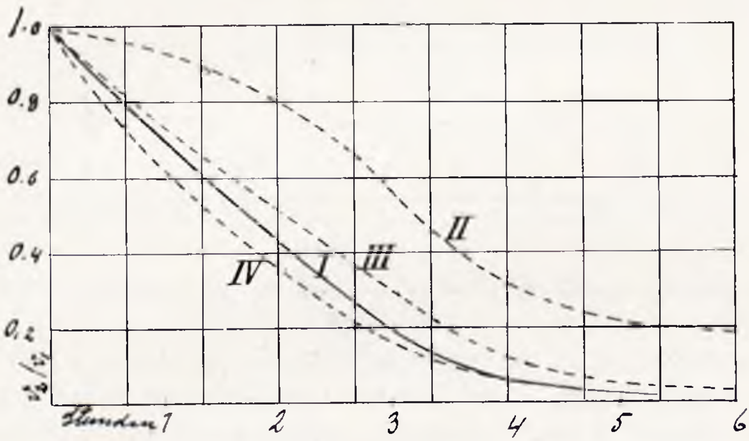


Fig. 3.

Kurve I weicht ersichtlich bedeutend von derjenigen (II) ab, die das Vergiftungsbild bei derselben Giftmenge aber der doppelten Hefemenge darstellt. Sie liegt ungefähr da, wo man die Kurve für 0,5 g Hefe und 0,02 g Cyklamin zu erwarten hat.

Einwirkung des Cyklamins bei Zuckerabwesenheit.

Bei Untersuchungen über die Wirkung chemischer Substanzen auf die Hefe wird gewöhnlich die Gärfähigkeit als Maß des Zustandes der Hefe angewandt. Man sieht dann vom eventuellen Einfluß des Zuckers auf die Wirkung der Substanz ab. In der letzten Zeit sind jedoch Versuche ausgeführt worden, welche zeigen, daß die Zuckerkonzentration

nicht gleichgültig ist. Um ein Beispiel anzuführen, fanden Herr und Frau Rosenblatt[1]), daß in 10prozentiger Zuckerlösung doppelt so viel Schwefelsäure und viermal so viel Essigsäure zum vollständigen Aufhören der Gärung erforderlich waren, als wenn die Lösung nur 1,25 % Zucker enthielt. Im Anschluß an die übrigen Versuche über die Giftwirkung des Cyklamins wurden einige Versuche gemacht, um den Einfluß zu untersuchen, den der Zucker eventuell auf die Cyklaminwirkung ausübt. Zwei werden hier angeführt.

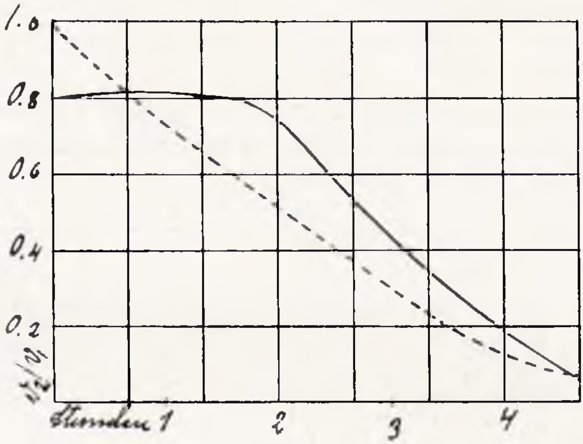


Fig. 4.

Die gezogene Kurve stellt v_2/v_1 aus Tabelle XIII dar, die punktierte ist Kurve III aus Fig. 2.

Methodisches: In jeden von 4 Kolben wurde 0,5 g Hefe abgewogen. Zwei wurden dann mit der Cyklaminlösung, zwei mit demselben Volumen Wasser versetzt und kräftig geschüttelt. Nachdem die Kolben im Thermostaten bei 30° einige Stunden gestanden hatten, wurden 20 ccm 10prozentiger Zuckerlösung zugesetzt und der Gärungsverlauf verfolgt.

Beim ersten Versuche wurden 5 ccm Cyklaminlösung bezw. Wasser zugesetzt. Die Konzentration der Lösung war 0,3 %, die Gärflüssigkeit enthielt also 0,015 g Cyklamin. Das Resultat kann daher mit den Tabellen III und IX verglichen werden. Im anderen Versuche wurden zwei Kolben mit 5 ccm 0,5prozentiger Cyklaminlösung und 5 ccm Wasser, die zwei anderen mit 10 ccm Wasser versetzt. Die Bedingungen betreffs der Giftkonzentration sind mit denen der Tabelle IV vergleichbar. Die zwei Originaltabellen und die Tabellen über v_1, v_2 und v_2/v_1 werden beigefügt.

[1]) Rosenblatt, Bull. Soc. Chim., Bd. 7 [4], 1910, S. 861.

Tabelle XIII.

In jedem Kolben der ersten Spalte befanden sich 5 ccm 0,3 % Cyklaminlösung während 163 Minuten vor dem Zusatz der Zuckerlösung.

0,015 g Cyklamin				Ohne Cyklamin			
Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm
26	16,2	26	16,5	27	20,1	26	20,4
81	45,0	82	44,4	82	53,3	81	55,8
127	66,0	128	66,0	129	79,8	128	83,6
203	88,0	203	88,5	203	123,6	202	125,3
253	94,0	254	95,2	254	151,0	253	153,6
308	96,5	308	98,2	308	180,5	307	181,8

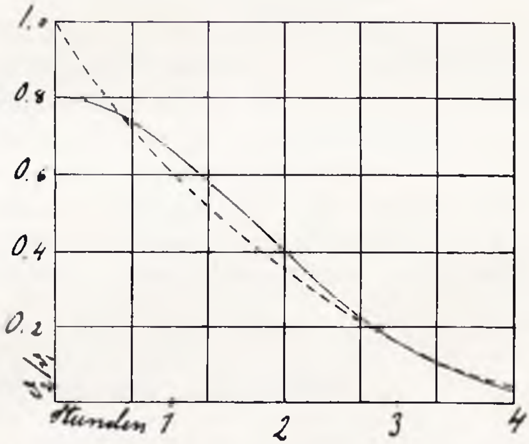


Fig. 5.
Die gezogene Kurve stellt v_2/v_1 aus Tabelle XIV dar, die punktierte ist Kurve IV aus Fig. 2.

Tabelle XIV.

In jedem Kolben der ersten Spalte wurde die Hefe mit 5 ccm 0,5 % Cyklaminlösung + 5 ccm Wasser 212 Minuten vor dem Zusatz der Zuckerlösung versetzt.

0,025 g Cyklamin				Ohne Cyklamin			
Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm	Min.	ccm
25	12,6	27	15,5	27	17,5	25	17,2
41	21,1	41	23,0	39	26,2	39	26,4
69	33,5	69	35,0	67	44,4	68	45,4
102	45,5	102	47,5	100	64,9	99	65,0
145	55,0	146	60,2	144	93,9	143	92,0
197	60,2	197	66,0	195	122,0	194	124,2
225	61,4	224	67,3	222	139,9	221	140,0
263	62,0	263	68,0	261	162,9	261	163,4

Tabelle XV.

Aus Tabelle XIII				Aus Tabelle XIV			
Min.	v_1	v_2	v_2/v_1	Min.	v_1	v_2	v_2/v_1
13	0,76	0,62	0,81	12	0,67	0,53	0,79
53	0,62	0,51	0,82	33	0,69	0,53	0,77
104	0,58	0,46	0,79	55	0,66	0,43	0,65
165	0,58	0,30	0,52	85	0,63	0,37	0,59
228	0,55	0,125	0,227	123	0,63	0,25	0,40
280	0,53	0,050	0,094	171	0,59	0,106	0,180
				210	0,62	0,045	0,073
				243	0,58	0,017	0,029

Die Tabellen und Kurven zeigen mithin, daß das Gift bei Abwesenheit von Zucker keinen Einfluß auf die Zymasewirkung der Hefe gehabt hat. Vielleicht ist die Geschwindigkeit in den ersten Minuten etwas kleiner, als wenn das Gift im Anfang der Gärung zugesetzt wird. Die absolute Kohlensäuremenge wird jedoch ungefähr dieselbe. Statt dessen hätte man beim Versuch der Tabelle XIV eine beinahe vollständige Vernichtung der Zymasetätigkeit vor dem Zuckerzusatz erwarten sollen. Das interessante Ergebnis wird später besprochen.

Wirkung des Cyklamins auf Trockenhefe.

Es ist schon vorher gezeigt worden, daß bei der Vergiftung von lebender Hefe mit Cyklamin die zu einer gewissen Vergiftungsgeschwindigkeit nötige Giftmenge der Hefemenge ungefähr proportional ist. Es schien nun von Interesse, auch einige Versuche mit Trockenhefe vorzunehmen. Man kann eine viel größere Menge Trockensubstanz nehmen und doch eine mäßige Zymasewirkung beibehalten. Dadurch könnte man eine sehr erniedrigte Giftwirkung erwarten, wenigstens, falls diese in eine Bindung des Giftes mit einer Substanz der Zelle bestehen würde.

Die Hefe war im Vakuum getrocknet. Verschiedene Trockenpräparate einer Hefe zeigen verschiedene Gärkraft, weil Differenzen in der Temperatur und Erhitzungszeit nicht vermieden werden können. Die zwei ersten Versuche und der dritte sind mit verschiedenen Trockenpräparaten ausgeführt. Ich führe nur die Größen v_1, v_2 und v_2/v_1 dreier Versuche an.

Tabelle XVI.

2 g Trockenhefe. 0,01 g Cyklamin.

Min.	v_1	v_2	v_2/v_1
8	1,43	1,07	0,75
56	1,20	0,61	0,51
71	1,16	0,61	0,52
88	1,01	0,52	0,52
117	0,80	0,37	0,46
159	0,91	0,60	0,67
209	0,81	0,51	0,63
253	0,78	0,51	0,65
308	0,79	0,52	0,66

Tabelle XVII.

0,5 g Trockenhefe. 0,01 g Cyklamin.

Min.	v_1	v_2	v_2/v_1
16	0,228	0,069	0,30
64	0,129	0,020	0,16
117	0,130	0,031	0,24
154	0,138	0,033	0,24
210	0,147	0,038	0,25
281	0,250	0,066	0,26
354	0,287	0,093	0,32
417	0,338	0,100	0,30
485	0,370	0,110	0,30
564	0,416	0,124	0,30

Tabelle XVIII.

0,5 g Trockenhefe. 0,005 g Cyklamin.

Min.	v_1	v_2	v_2/v_1
29	0,113	0,074	0,66
82	0,077	0,042	0,54
133	0,073	0,051	0,70
191	0,068	0,038	0,56
254	0,078	0,046	0,59
316	0,094	0,057	0,61
368	0,107	0,061	0,57
450	0,151	0,092	0,61
563	0,164	0,104	0,64
653	0,181	0,120	0,66

Beim vierten Versuch war die Hefemenge dieselbe wie beim vorigen. Die Giftmenge aber war die vierfache. Während 590 Minuten wurde bei der unvergifteten Gärung 70, bei der vergifteten 3,7 ccm Kohlensäure entwickelt. Die Vergiftung war also von Anfang an eine so gut wie vollständige.

Der Verlauf der unvergifteten Gärung ist ein anderer, wenn 2 g Hefe zugesetzt werden, als wenn die Hefemenge 0,5 g ist. Im vorigen Falle ist die Geschwindigkeit im Anfang am größten, nimmt dann beständig ab. Mit dem anderen Versuch verglichen, ist die Anfangsgeschwindigkeit viel größer, als man von der Hefemenge zu erwarten hätte, wenn eine Proportionalität zwischen Hefemenge und Geschwindigkeit bestehen würde. Bei einem Zusatz von 0,5 g Hefe zeigt die Gär-

kraft einen unregelmäßigen Verlauf; sie fällt anfangs, danach aber wächst sie ziemlich rasch.

Wenn man nun die Wirkung des Cyklamins betrachtet, so ist es erstens auffallend, daß sie von Anfang an zutage tritt. Weiter ist sie während der Gärung ziemlich konstant und zwar so, daß ein bestimmter Teil der gesamten Gärkraft aufgehoben wird, wie diese sich auch ändert. Die Größe dieses Teiles ist dann sowohl von der Cyklaminmenge als von der aktiven Zymase der Trockensubstanz und nicht von der absoluten Menge der Trockensubstanz abhängig.

Diskussion.

Bei der Vergiftung von Hefe mit einigen momentan wirkenden Giften wird, wie bekannt, die Zymasewirksamkeit nicht völlig aufgehoben. Im allgemeinen scheint jedoch eine Schädigung der Hefezelle auch die Zymasetätigkeit zu beeinträchtigen und einige Forscher u. a. Buchner nehmen an, daß die zwei Vorgänge parallel verlaufen, wenn die Schädigung eine langsam vor sich gehende ist. Die Abnahme der Gärungsgeschwindigkeit dürfte also ein Bild von dem fortschreitenden Tod der Hefe geben.

Erst im letzten Jahrzehnt hat man versucht, den Gang des Absterbens einer Sammlung von niederen Organismen zu bestimmen. Die Anregung zu solchen Untersuchungen gaben Krönig und Paul[1]) durch eine im Jahre 1897 veröffentlichte Arbeit, wobei die Wirkung von Quecksilbersalzen, Säuren, Basen und Oxydationsmitteln auf Milzbrandsporen bestimmt wurde. Während zehn Jahren wurde das Thema nicht bearbeitet. Im Anschluß an Krönigs und Pauls Arbeit zeigten Madsen und Nyman[2]) 1907, daß die Abtötung der Bakterien bei der Sublimatdesinfektion durch eine einfache Gleichung ausgedrückt werden konnte, und zwar durch die, welche für monomolekulare Reaktionen gültig ist. Sie glaubten ebenfalls, das Absterben der Bakterien bei höheren Temperaturen als monomolekular verlaufend ansehen zu können. Dieselbe Gesetzmäßigkeit gilt nach Hariette Chick[3]) auch bei der Anwendung einiger anderer Desinfektionsmittel als Sublimat. Paul[4]) hat versucht zu zeigen, daß trockene Bakterien auch bei Zimmertemperatur und bei 0° denselben Gang des Absterbens zeigen. Die mit-

[1]) Krönig und Paul, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 25, 1897, S. 1.
[2]) Madsen und Nyman, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 57, 1907, S. 388.
[3]) H. Chick, The Journ. of Hygiene, Bd. 8, 1908, S. 92.
[4]) Paul, Biochem. Zeitschr., Bd. 18, 1909, S. 1.

geteilten Tabellen sind indessen unzureichende Beweise für diese Behauptung. Bei einem Versuche steigt die Konstante von 0,016 bis zu 0,061. Sowohl in der eben besprochenen als in einer anderen in Gemeinschaft mit Birstein und Reuß[1]) ausgeführten Arbeit hat Paul versucht, den monomolekularen Vorgang bei Sauerstoffdesinfektion zu erklären. Die Erklärung scheint indessen etwas gewagt, wie überhaupt jede kinetische Betrachtungsweise auf diesem Gebiete sein muß. In den Tabellen findet man bei den Versuchen mit Sauerstoff ein abnehmendes K. In einer späteren Abhandlung haben Paul, Birstein und Reuß[2]) die kinetische Auffassung nochmals verfochten und von ihrem Gesichtspunkt den Einfluß der Giftkonzentration auf die Desinfektionsgeschwindigkeit untersucht.

Einer anderen Auffassung schließen sich z. B. Eijman[3]) und Reichel[4]) an. Sie schreiben die allmähliche Abnahme der Anzahl lebensfähiger Bakterien individuellen Resistenzunterschieden zu. Eijkman studiert die Überlebungskurve bei der Abtötung von Bakterien durch Hitze. Im allgemeinen hat er Kurven von ∫-Form bekommen. Die Anhäufung der Sterbefälle findet also um einen gewissen Zeitpunkt statt, demgemäß, daß eine Frequenzkurve resultiert, für welche eben dieser Punkt einen Wendepunkt darstellt. Indessen variiert das Aussehen der einzelnen Kurven bedeutend. Reichel meint u. a., daß die verschiedenen chemischen Substanzen in bezug auf ihre Desinfektionskraft nicht miteinander verglichen werden können. Dienes[5]) versucht eine mit der Bakterienvergiftung analoge Erscheinung, die Hämolyse, durch verschiedene Resistenz der Blutkörperchen zu erklären. Seine Auffassung vom Desinfektionsvorgang sei wörtlich angeführt: „Die Tatsache, daß die vermehrungsfähigen Bakterien nicht in einem gewissen Zeitpunkt plötzlich verschwinden, sondern ihre Zahl allmählich abnimmt, kann zwei Ursachen haben. 1. Die einzelnen Bakterien können in verschiedenem Grade der Einwirkung der Desinfizienten ausgesetzt sein, oder 2. die Bakterien selbst reagieren aus nicht näher bekannten Ursachen verschieden. Der Fall 2. dürfte vorzüglich in Betracht kommen. Die selektive Einwirkung der Wärme kann nicht anders als so gedeutet werden. Wenn man annimmt, daß die Verteilung der verschiedenen

---

[1]) Paul, Birstein und Reuß, Biochem. Zeitschr., Bd. 25, 1910, S. 267.

[2]) Paul, Birstein und Reuß, Biochem. Zeitschr., Bd. 29, 1910, S. 202.

[3]) Eijkman, Biochem. Zeitschr., Bd. 11, 1908, S. 12.

[4]) Reichel, Biochem. Zeitschr., Bd. 22, 1909, S. 149.

[5]) Dienes, Biochem. Zeitschr., Bd. 33, 1911, S. 268.

Grade der Resistenz dem Queteletschen Gesetze folgt — was sehr wahrscheinlich ist — so können wir mit Hilfe einfacher Hypothesen, ausgehend von der Verteilung der verschiedenen Grade der Resistenz, zu jeder beliebigen Formel gelangen, also auch zur monomolekularen." Schließlich mag auf die Resultate von Reichenbach[1]) hingewiesen werden. Er findet, daß das Absterben einer Bakterienmenge unter dem Einfluß irgend einer Schädlichkeit meistens, aber nicht immer, nach einem Exponentialgesetz vor sich geht und betont, daß die Erklärungen, welche diese Absterbeordnung auf rein physikalisch-chemische Gesetze zurückzuführen versuchen, nicht befriedigen können. Er meint, daß die ungleiche Resistenz der Individuen von deren Alter abhängig ist und zwar so, daß die jüngsten am wenigsten widerstandsfähig sind, weshalb eine exponentielle Absterbeordnung nur von in Kulturen gezüchteten Mikroorganismen zu erwarten ist.

Nach dieser Übersicht wollen wir die hier gemachten Versuche betrachten. Ehe wir uns den verschiedenen Kurven von Fig. VI zuwenden, wäre es von Interesse, die wahrscheinliche Wirkung des Cyklamins auf Hefe etwas zu besprechen, obgleich aus den hier mitgeteilten Tatsachen keine endgültige Antwort zu erwarten ist.

Czapek[2]) hat in einer unlängst erschienenen Arbeit, auf zahlreiche experimentelle Befunde gestützt, die Ansicht ausgesprochen, daß oberflächenaktive, wässerige Lösungen einer Substanz, unabhängig von ihrer chemischen Natur, nach der Erreichung einer gewissen Oberflächenspannung auf die lebende Zelle toxisch wirken und zwar so, daß Exosmose der Zellinhaltstoffe hervorgerufen wird. Ähnliche Versuche u. a. mit Hefe hat Kisch[3]) angestellt und die Czapeksche Annahme bestätigt gefunden; die Hefezellen vertrugen jedoch eine größere Erniedrigung der Oberflächenspannung als die Zellen höherer Organismen. Diesen Befunden analog sind die Tatsachen, die Herzog veranlaßt haben, einen Parallelismus zwischen der Adsorption einer gelösten Substanz und ihrer Giftigkeit anzunehmen; eine Substanz, die die Oberflächenspannung ihrer Lösung erniedrigt, wird nach dem Gibbs-Thomsonschen Theorem zur Grenzfläche adsorbiert. Einige Versuche, die Oberflächenspannung von Saponinlösungen zu bestimmen, sind mir nicht bekannt. Indessen ist zu erwarten, daß sie schon bei kleinen Konzentrationen sehr niedrig ist. Dafür spricht die Analogie der Sa-

[1]) H. Reichenbach, Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt.-Krankh., Bd. 69, 1911, S. 171.

[2]) F. Czapek, Ber. d. D. Bot. Ges., Bd. 28, 1910, S. 480.

[3]) B. Kisch, Biochem. Zeitschr., Bd. 40, 1912, S. 152.

ponine mit den hydrophilen Kolloiden, die die Oberflächenspannung anomal erniedrigen, besonders die starke Schaumbildung, die nach Lord Rayleigh eben durch die Erniedrigung der Oberflächenspannung bedingt wird. Schließlich mag daran erinnert werden, daß einige Saponine von feinpulverigen Niederschlägen, wie Bleisulfid, sehr energisch absorbiert werden. Die Czapeksche Hypothese wäre daher bei der Cyklaminvergiftung sehr plausibel, wenn nicht die Vergiftungsversuche ohne Zuckerzusatz gezeigt hätten, daß diese zur Erklärung aller Tatsachen nicht ausreicht. Diese Versuche zeigten, daß die Hefe oder wenigstens die Zymasetätigkeit bei Zuckerabwesenheit nicht geschädigt wird. Auf die Oberflächenspannung der Lösung kann der Zucker als oberflächeninaktive Substanz keine erniedrigende Einwirkung haben. Aus den eben erwähnten Versuchen scheint auch hervorzugehen, daß die Zellmembran von Cyklamin nicht angegriffen wird. Auf die Angreifbarkeit der Membran kann der Zucker wohl kaum Einfluß haben. Wahrscheinlich wirkt das Gift erst nach Diffusion in der Zelle. Diese Diffusion dürfte nun eine aktive sein, durch die physiologische Tätigkeit der Zelle hervorgerufen; daß sie nicht eine passive ist, daß sie nicht durch die Overtonsche Lipoidtheorie erklärt werden kann, auch dies zeigen die Vergiftungsversuche ohne Zuckerzusatz. Die Gärung selbst setzt ja eine aktive Permeabilität für den Zucker voraus, weil er lipoidunlöslich ist, und die Zymasewirksamkeit intrazellulär verläuft. Der Zuckerzusatz kann diese Permeabilität der Zelle für Cyklamin in zweifacher Weise beeinflussen. Es wäre denkbar, daß die Membran erst dann für Cyklamin durchlässig wird, wenn sie Zucker aufgenommen hat. Mayerhofer und Stein[1]) zeigten, daß ein zuckerhaltiges, wässeriges Medium die Permeabilität tierischer Darmmembrane stark erhöht. Auch die gebildete Kohlensäure könnte die Diffusion des Cyklamins begünstigen. Nach Höber[2]) eröffnet oft die Kohlensäure die Plasmahaut für Stoffe, die lipoidunlöslich sind, und diese Durchlässigkeit verschwindet wieder mit dem Austreiben der Kohlensäure.

In der Zelle kann das Cyklamin entweder mit Eiweißstoffen oder mit Lezithin und Cholesterin sich verbinden und dadurch den Zelltod hervorrufen. Daß das Gift gebunden wird und nicht katalytisch wirkt, zeigen die Versuche mit wechselnden Hefemengen bei konstanter Giftkonzentration. Arrhenius[3]) hat gefunden, daß die zur vollständigen

[1]) Mayerhofer und Stein, Biochem. Zeitschr., Bd. 27, 1910, S. 384.

[2]) Höber, Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 101, 1904, S. 627; Bd. 102, 1904, S. 196.

[3]) Arrhenius, Biochem. Zeitschr., Bd. 11, 1908, S. 161.

Hämolyse einer bestimmten Blutmenge x erforderliche Saponinmenge m durch die Formel ausgedrückt wird:

$$m = a + bx.$$

Die Größe a ist dann von der Giftkonzentration abhängig und zwar gleich $c \cdot v$, wobei v das Volumen und c eine Konstante bedeutet. Für mehrere Saponine ist c eine sehr kleine Größe. In seinem „Lehrbuch der Intoxikationen" sagt Kobert: „Wenn man so wenig Gift (Saponin) zu den Blutkörperchen zusetzt, daß es zur Auflösung nicht hinreicht, und trennt nach Verstreichen der Inkubationszeit Körperchen und Zwischenflüssigkeit, so findet man bei vielen dieser Gifte die Zwischenflüssigkeit giftfrei, die roten Blutkörperchen aber gifthaltig." Sowohl bei der Hämolyse wie bei der Vergiftung der Hefe dürfte also die erforderliche Cyklaminmenge, wenn die Verdünnung nicht allzu groß ist, durch die Formel $m = bx$ wiedergegeben werden können.

Es ist deutlich, daß die Kurven der Fig. 2 die Resistenzphänomene wiedergeben; sie sind also eine Reihe Resistenzkurven, deren Verlauf von der Menge des Giftes abhängig ist. Betrachtet man die Kurve mit 0,005 g Cyklamin, so sieht man, daß erst nach 2 Stunden die Giftwirkung hervortritt. Die weniger resistenten Zellen haben zu dieser Zeit eine tödliche Dosis bekommen. Die Giftmenge ist nun größtenteils erschöpft, und die meisten Zellen bleiben am Leben; die Kurven werden der Abszisse parallel. Wird nun die Giftmenge gesteigert, so zeigt sich das in zwei Hinsichten; teils wird die Inkubationszeit der Zellen von einer gewissen Resistenz kürzer, teils bekommen Zellen von immer höherer Resistenz die letale Dosis. Schon bei 0,01 g entgehen nur ungefähr 15 % der Zellen nach vollständiger Absorption des Giftes dem Tode. Bei dieser Cyklaminmenge hat die Kurve ein Aussehen, das den Eijkmanschen Kurven annähernd gleicht. Man darf jedoch nicht von den Verschiedenheiten zwischen diesen und den Eijkmanschen Versuchen absehen. Eijkman hat mit einer konstanten Einwirkung zu tun gehabt. Hier nimmt die Giftkonzentration mit der Vergiftung ab. Bei 0,015 g Cyklamin ist die Kurve während vier Stunden beinahe eine Gerade. Sie bildet den Übergang zu den zwei letzten, die ein ganz anderes Aussehen aufweisen, nämlich die Form, die Madsen aus den Versuchen von Krönig und Paul hergeleitet hat. Es scheint also eine Tatsache zu sein, daß die Widerstandsfähigkeit einer Sammlung Organismen oft so verteilt ist, daß die Zellen nach der Formel der monomolekularen Reaktion zugrunde gehen, wenigstens wenn das Gift kräftig wirkend und, soweit Protoplasmagifte in Frage kommen, in genügendem

Überschuß zugegen ist. Reichenbachs Erklärungsversuch kann hier keine Anwendung finden, weil die Hefe nicht aus einer Kultur genommen ist.

Zusammenfassung.

1. Durch Vorbehandlung lebender Hefe mit reiner Cyklaminlösung wird ihre Gärfähigkeit nicht beeinflußt. In Gegenwart von Zucker wird dagegen die Gärtätigkeit der Hefe durch Cyklamin stark herabgesetzt. Es zeigte sich also, daß in diesem Falle die Wirkung eines Giftes vom physiologischen Zustand bezw. der physiologischen Tätigkeit der Zellen abhängig ist.

2. Die Vergiftung der Hefe durch Cyklamin kann daher nicht durch Erniedrigung der Oberflächenspannung der Lösung oder einfach auf Grund der Lipoidtheorie von Overton erklärt werden.

3. Die zur Vergiftung einer gewissen Hefemenge notwendige Giftmenge ist der Hefemenge proportional.

4. Oberhalb einer gewissen Grenze der Cyklaminkonzentration zeigt ein weiterer Zusatz von Gift keine Steigerung der Vergiftungsgeschwindigkeit.

5. Das Vergiftungsbild dürfte nicht einer einfachen chemischen Reaktion entsprechen, sondern ist nur durch die individuelle Resistenz der Zellen zu erklären.

6. Die Einwirkung des Cyklamins auf Trockenhefe bezieht sich nur auf die aktive Hefe, nicht auf die Menge der Trockensubstanz.

7. Das Cyklamin zeigt noch bei sehr kleinen Konzentrationen keine stimulierende Wirkung auf die Gärtätigkeit der Hefe.

Neue Beiträge zur Lösung des Mykorrhizaproblems.

Von **Jaroslav Peklo.**

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institute der böhmischen Universität in Prag.)

A. Cytologie der Fichten- und Kiefernmykorrhizen.

I.

Im Anschluß an meine früheren Untersuchungen[1]) und zum Abschluß derselben habe ich auch Mykorrhizen der Fichte (Picea excelsa L.) einem eingehenden Studium unterworfen. Ich ging dabei von den möglichst natürlichen Bedingungen aus, unter welchen diese Gebilde vorkommen, und bezog mein Material aus ausgedehnten, gut gepflegten und gesunden Fichtenwäldern, wie sie z. B. in Mittelböhmen vorkommen. Was das geologische Substrat betrifft, auf welchem die genannten Wälder stehen, so haben meine Angaben Geltung für das Urgestein: Granit und Gneis, weiter für Kalkstein und für permischen Boden. Ist das Terrain somit ein nicht zu hohes Hügelland, so entsteht doch auf mehreren Orten desselben durch die Verwitterung des Untergrundes ein fruchtbarer Lehmboden. Trotzdem der Boden also meistens von einer guten Qualität ist, kommt es sehr oft zur ausgedehnten Bildung des sog. Rohhumus. Die Streudecke verwandelt sich dabei in eine dicke und dichte Masse von einer filzartigen Konsistenz, welche sich von dem unterliegenden Substrat leicht abziehen läßt. In diesem Filz kommt nun als integrierender Bestandteil desselben und zugleich als Ursache von seiner festen Konsistenz eine außerordentliche Menge von Mykorrhizen vor. Ich war erstaunt, als ich in dem durch abnorme Regengüsse, welche 1910 im

---

[1]) J. Peklo, Beiträge zur Lösung des Mykorrhizaproblems (Berichte der deutschen botan. Gesellschaft 1909, XXVII). I. Teil. Die Buchenmykorrhizen. In extenso in den Publikationen der böhmischen Akademie der Wissenschaften 1910, XIX. Jahrgang: Epiphytische Mykorrhizen. II. Carpinus Betulus und Fagus silvatica. — V. Mykorrhizen und Humus. Die Bedeutung der Mykorrhizen für die Forstwissenschaft. 130 S., 2 Tafeln. Böhmisch.

Herbst in Böhmen stattgefunden haben, ausgewaschenen und was die Struktur betrifft, nun sozusagen „durchsichtigen“ Boden die Unmasse von einem feinen, und wie ein dichtes Drahtnetz aussehenden Wurzelgeflechte vorfand, das aus lauter Mykorrhizen bestand. Öfters betrug die Höhe dieser Wurzelschicht mehrere Centimeter, ja sie maß zuweilen am Fuß der Bäume 10 bis 30 Centimeter. Sie war gebildet von dünnen, harten und spröden Auszweigungen, welche in Mykorrhizen verwandelt waren.

Das Mykorrhizengeflecht ist regelmäßig in einiger Entfernung von der Oberfläche der Streudecke zu finden. Die jüngste Nadelstreu bedeckt nur lose die Oberfläche des „Filzes“, weiter nach unten wird sie aber von zahlreichen Pilzfäden umsponnen, hält kräftig die Feuchtigkeit zurück, so daß ihre Komponenten, die Nadeln, biegsam und wie mazeriert erscheinen, bis sie endlich ihre ursprüngliche Form allmählich einbüßen und der Zersetzung unterliegen. Die Mykorrhizen befinden sich nun in derjenigen Schicht der Streudecke, die schon z. T. zersetzt und verwest ist, sie gehen aber auch weiter in einer ziemlich beträchtlichen Menge in den Mull ein, welcher allerdings in den geschilderten mittelböhmischen Wäldern nicht in großen Mengen vorkommt und außerdem eine etwas gröbere Struktur besitzt, als es z. B. bei dem Buchenmull der Fall ist, so daß sich hier ein gewisser Unterschied gegenüber den Mykorrhizen des Buchenrohhumus zeigt, deren Vorkommen in den von mir untersuchten böhmischen Wäldern (vgl. Peklo 1910, V., S. 22) konstant an eine bestimmte Schicht des Rohhumus gebunden ist, ohne daß in der darunterliegenden, oft eine beträchtliche Höhe erreichenden Mullschicht regelmäßig und in einer größeren Anzahl die Mykorrhizen anzutreffen wären. Außerdem tritt bei den Buchenrohhumus-Mykorrhizen klar vor Augen und wurde auch durch diesbezüglich ausgeführte Kulturversuche mit den von den Buchenmykorrhizen isolierten Pilzen erwiesen, daß eben in dieser Schicht, „der Mykorrhizenschicht“ die Zersetzung der Streudecke vor sich geht und sehr wahrscheinlich zum großen Teil von Mykorrhizen besorgt wird (vgl. Peklo 1910, V., S. 23 u. f.). Ähnliche Beziehungen dürften bei Fichtenmykorrhizen in einem geringeren Maße zu erwarten sein, weil sich hier meist die genannten Gebilde schon in einer gründlicher zersetzten Streudeckenschicht, als dies in dem Rohhumus der Buchenwälder der Fall ist, befinden und in einer größeren Menge in dem Mull, als es die „Theorie“ verlangen würde, vorkommen. Die geschilderte Funktion scheint daher in diesem Falle mehr durch die freilebenden Schimmelpilze bewirkt zu werden, welche neben den Mykorrhizen in den oberen Streudeckenschichten vegetieren. Allerdings ist etwas

Bestimmteres über diese Verhältnisse erst von gründlichen mykologisch-physiologischen Studien zu erwarten.

In denjenigen Fichtenbeständen, die als „Mullwälder“ zu bezeichnen wären, zeigte meist die „Filzschicht“ einen kleineren Umfang, die Streudecke unterlag einer rascheren Zersetzung und unter ihr lagerte sich eine größere oder geringere Menge eines frischen, feinen Mulls ab. Auch die Menge der Mykorrhizen war in der Filzschicht geringer, als in dem typischen Rohhumus. Nach dem Auswaschen zeigte es sich indessen, daß auch in diesem Falle, und zwar sowohl in der Streudecke, als auch in in dem Mull, die Mykorrhizen in großer Anzahl vorhanden waren. Im Thüringer Wald (auf Kalkboden) und auf der Insel Rügen (Mull, fruchtbarer Boden) hat der Verfasser Buchenbestände gefunden, in deren Rohhumus, welcher, wie es schien, einer raschen Zersetzung unterlag, keine Mykorrhizen vorhanden waren (Peklo, 1910, V., S. 26, 29). Bei der Fichte habe ich aber ähnliche Fälle trotz des vielen Suchens, und obwohl sie in einem guten Boden doch zu erwarten sind, in Böhmen bisher nicht konstatiert. Es muß folglich auf die außerordentlich weitgehende geographische Verbreitung der Mykorrhizen bei der Fichte ein großer Nachdruck gelegt werden, weiter auf die großen Mengen, in welchen sie, den bisherigen Untersuchungen nach, immer vorkamen, so daß die Symbiose in dieser Hinsicht zweifellos ein entsprechendes Gegenbild zu derjenigen der Leguminosen vorstellen dürfte.

Indessen ist es nicht immer leicht, sich durch die bloße makroskopische Analyse oder durch die Lupenbetrachtung eine richtige Vorstellung von der Häufigkeit des Vorkommens der Mykorrhizen im Humus und insbesondere von der Beschaffenheit derselben zu machen. Die Ursache liegt darin, daß die meisten Mykorrhizen des Rohhumus so zart sind und so den gewöhnlichen Wurzelfasern ähneln, daß bloß die höchstdifferenzierten von ihnen als solche gleich zu erkennen sind. Es bleibt nichts anderes übrig, als die ganzen Mykorrhizennester in entsprechenden Fixierungsflüssigkeiten zu fixieren und in Paraffin in toto zu zerschneiden. Dann ergibt sich aber, daß einige und wichtige Struktureigentümlichkeiten in allen Mykorrhizen der Fichte anzutreffen sind.

In allen Mykorrhizen der Fichte und der Kiefer wird eine große Menge von gerbstoffähnlichen Stoffen angehäuft. Zum Studium der Lokalisation dieser Stoffe eignet sich gut die Fixierung mit 10% Kaliumbichromat und die nachträgliche bekannte Färbung mit Anilinwasser-Safranin und Behandlung mit Alkoholen. Derselbe Zweck kann erreicht werden durch die Anwendung von Pikroformol (konzentrierte Pikrinsäure 20 ccm, Formaldehyd 40%ig 40 ccm, Eisessig 5 ccm), Fuch-

sin S (12 Stunden) und Gentianaviolett (mit vorausgehender Tannin-Brechweinsteinbeizung 1/2 Stunde) oder durch die Anwendung einer mittelstarken Flemmingschen Lösung: 100 ccm 1%iger Chromsäure, 4 ccm 1/2 %iger Osmiumsäure, 0,6% 80%iger Essigsäure; S-Fuchsin, Gentiana. Dabei kann auch die Struktur des Vegetationskegels studiert werden. Weil aber in den „gerbstoff"haltigen Zellen durch die Einwirkung der Chromsäure resp. des Formaldehyds ein Niederschlag entsteht, welcher durch Gentianablau gefärbt wird, wodurch allerdings die Struktur des Zellinnern verdeckt wird, wurden vom Verfasser auch solche Fixierungsflüssigkeiten angewendet, die den Vakuoleninhalt lösen. Vor allem erwies sich dafür die Němecsche Flüssigkeit als geeignet (konzentrierte Pikrinsäure, 0,04% konz. H_2SO_4, 0,5% $C_2H_4O_2$ und zwar sowohl mit der gewöhnlichen, schwachen Scnwefelsäurekonzentration als auch mit einer stärkeren, und endlich das Juelsche Gemisch (100 ccm 50%iger Alkohol, 2 g Zinkchlorid, 1 ccm Eisessig). Nach Gebrauch dieser letzteren Fixierungsmittel wurde regelmäßig mit Heidenhains Hämatoxylin gefärbt: 1 Stunde lang mit 5%igem Eisenalaun gebeizt, 12 Stunden in Hämatoxylin belassen, zurückdifferenziert, wieder in Eisenalaun, in Anilinwasser-Safranin (eine alte Lösung) 1/2 Stunde nachgefärbt, differenziert in 50 und 75% Alkohol, endlich nach Tannin (5%)-, Brechweinstein ($2^1/_2$%)-Beizung (immer 1/2 Stunde lang) mit wässeriger Gentiana (10 Minuten) gefärbt.

Das Material für die zytologischen Untersuchungen wurde in verschiedenen Jahreszeiten: anfangs Dezember, im Februar, April, Mai und im Oktober gesammelt. Es hat sich nämlich gezeigt, daß die mikroskopischen Einzelheiten der Mykorrhizen in verschiedenen Jahreszeiten nicht ganz dieselben sind. Die Beobachtung fand zwei Jahre hindurch statt, das Material wurde stets gleich nach dem Einsammeln fixiert.

Das mikroskopische Bild ist nicht bei allen Fichtenmykorrhizen das gleiche, doch kehren die wesentlichsten Züge des gegenseitigen Verhaltens der beiden Symbionten in allen Präparaten wieder und es sei gleich bemerkt, daß die Resultate der zytologischen Untersuchung der Fichten- und Kiefernmykorrhizen, wie sie der Verfasser im Folgenden wiedergeben wird, grundverschieden sind von denen anderer Autoren, die dasselbe Thema behandelt haben.

Betrachten wir als Beispiel eine von den glatten, dickeren, regelmäßig „korallenartig" verzweigten und hochdifferenzierten Mykorrhizen, wie sie manchmal in großen Mengen im alten, nicht allzu kompakten und sich gut zersetzenden Rohhumus mit einer Mullunterlage vorkommen (erster Typus). Diese Mykorrhize ist mit einem den

Vegetationskegel rings umschließenden Pilzmantel versehen, von einer bräunlichen, nicht schwarzen Farbe, von welch' letzterer Beschaffenheit Mykorrhizen in unteren Humuslagen öfters vorkommen, in dieser Mitteilung jedoch vorläufig nicht näher geschildert werden sollen, weil dem Verfasser noch einige zytologische Daten derselben fehlen.

In den mit Flemmingscher Lösung und Pikroformol fixierten Präparaten tritt die Lokalisation der „Gerbstoffe“ in den Fichtenmykorrhizen klar vor Augen. Alle Rindenzellen zeigen sich von ihnen ausgefüllt und die Hauptvakuolen dieser Zellen zeichnen sich nach der Fuchsin- oder der nachträglichen Gentianafärbung durch einen bläulichen Inhalt aus. Die Behandlung der Schnitte mit Kaliumbichromat ruft einen goldgelben Niederschlag daselbst hervor, mit Eisenchlorid selbstverständlich eine schwarze Färbung. In einzelnen Partien der Mykorrhize lassen sich doch Unterschiede feststellen, die auf eine verschiedene Quantität der in ihnen angehäuften „Gerbstoffe“ hinzudeuten scheinen. Vor allem ist es der Vegetationskegel, in dem der nach der Fixierung mit Flemmingscher Lösung, beziehungsweise mit Pikroformol entstandene Niederschlag nach der erwähnten Färbung blasser erscheint als in der Rinde und wo auch der Kaliumbichromatniederschlag aus einer geringeren Anzahl Körnern besteht als anderswo. Denselben Unterschied gegenüber der Rinde zeigt auch die Endodermis. In den beiden Geweben sind also wahrscheinlich die Lösungen der „Gerbstoffe“ mehr diluiert als in den anliegenden Partien; daß aber diese Unterschiede nicht durch die chemische Beschaffenheit des Vakuoleninhaltes bedingt sein könnten, wurde allerdings durch die vorliegenden Untersuchungen nicht widerlegt. Jedenfalls ist es sehr wahrscheinlich, daß die Anwesenheit der „Gerbstoffe“ von der bestimmten Qualität in den Rindenzellen dazu beiträgt, wenn nicht die Ursache davon die ist, daß die Pilzhyphen, welche von dem Mantel ausgehen, größtenteils auf die Interzellularen restringiert werden, wo sie den bekannten Réseau d'Hartig bilden. Die näheren Einzelheiten dieser Erscheinung hoffe ich bei anderer Gelegenheit klarlegen zu können.

Durch das Ausfällen der „Gerbstoffe“ in den Vakuolen werden einige Zellkomponenten verhindert, bei dem Auswaschen und Färben der Mikrotompräparate aus den Zellen auszufallen, so die Stärkekörner, welche allerdings in einer kleineren Anzahl in den Rindenzellen der Fichtenmykorrhizen vorkommen, als in denjenigen der Kiefer. Sie erscheinen nach der Němecschen inversen Tinktion mit Gentiana tiefblau. Auch in den Vegetationskegeln wird die Stärke angehäuft, bei der Kiefer wieder in einer recht beträchlicheren Menge als bei Picea.

Zu welchem Zwecke dies geschieht, wurde dem Verfasser klar, als er fand, daß schon die meristematische, von den großen Kernen fast ganz schwarz (Heidenhain) oder rot (S-Fuchsin) erscheinende Zone des Vegetationskegels der Mykorrhizen von dem Pilze infiziert wird. Der Pilz tritt hier stellenweise in den Interzellularen auf, nicht selten aber auch typisch endophytisch, d. h. im Inneren der jungen, nicht weit von einer vorangegangenen Teilung entfernten Zellen. Er bildet haustorienartige Fortsätze, welche meistens in der Einzahl in jeder Zelle angetroffen wurden. Andere Lebensäußerungen seitens des Pilzes lassen die kleinen, meristematischen Zellen kaum zu. Von den befallenen Zellen sind es vorzugsweise diejenigen, welche die Seiten des Meristems bilden, die infiziert zu werden pflegen. Und wiederum ist es die Kiefer, die eine reichlichere Infektion des meristematischen Teils des Vegetationskegels aufweist, als die Fichte. Es ist daraus der innige Zusammenhang der beiden Symbionten, des Waldbaumes und des Pilzes, der sich schon in dem Vegetationspunkt offenbart, wohl ersichtlich.

In den erwachsenen Partien der Wurzelrinde ist es nicht schwer, in mehreren Zellen das Vordringen des Pilzes von dem Réseau in das Zellinnere in der Form von gröberen Haustorien zu verfolgen. Sie zielen meistens auf den Zellkern, und ihr „Zufüttern“ erfolgt wohl zum Teil durch die Stärkekörner, welche auch in diesen Zellen manchmal vorhanden sind.

Das endophytische Auftreten des symbiotischen Pilzes bleibt nicht auf den meristematischen Teil der Mykorrhiza beschränkt. Sehr oft sehen wir, wie die Hyphen auch in den Zellen verlaufen, die schon hinter der meristematischen Zone liegen, zum Teil gerade in dem Stadium des Streckenwachstums sich befinden, insgesamt jedoch erst die jüngste Zuwachszone der Wurzel vorstellen. Diese, an den Flanken des Vegetationsmeristems liegenden Zellen werden immer von mehreren Pilzfäden durchdrungen, welche, fast das ganze Zellumen ausfüllend, sich hier in verschiedenen Richtungen verflechten. Ihre Membranen sind dünn. Diese Hyphen zeichnen sich durch einen reichlichen Eiweißgehalt aus, weshalb sie von verschiedenen Plasmafarbstoffen stark tingiert werden. In einigen Fällen ließ sich feststellen, daß von beiden Seiten des Pilzmantels Pilzstränge zu der infizierten Zone hingehen, so daß der Schluß gerechtfertigt erscheinen dürfte, die endophytische Pilzmasse hätte darin den Ursprung genommen. Doch war dies nicht immer zu konstatieren, und bleibt auch die Möglichkeit übrig, daß der ursprüngliche Herd dieser endotrophen Infektion schon in dem Meristem zu suchen ist. Außerdem verdient hier aber noch eine andere Tatsache Beachtung. Die Wurzel-

haube der Mykorrhizen wird zwar, was die Anzahl der Zellen resp. was den Statolithenapparat betrifft, stark reduziert, ihre Zellen sind dagegen oft stark vergrößert, aufgebläht, und wieder fast ganz von einem Pilzgeflecht ausgefüllt. Die Infektion kann folglich auch von dieser Seite, an den Rändern des Meristems in das junge Rindengewebe übergehend, stattfinden. In einer gewissen Entfernung vom Vegetationspunkt hört die endophytische Infektion der Wurzelspitze auf, der Pilz scheint in der Rinde auf die Interzellularen und auf die von diesen entsendeten Haustorien beschränkt zu sein. Im Gefäßbündel finden wir ihn jedoch wieder, und zwar ganze Zellen der Endodermis ausfüllend. Er fängt schon in der Würzelspitze an in der Endodermis sich anzusiedeln, im weiteren Verlaufe derselben erstreckt er sich in ihr sehr oft ihrer ganzen Länge nach oder so, daß er nur einige wenige Zellen derselben ausläßt. Es ist insbesondere an tangentialen Schnitten gut zu verfolgen, wie auf diese Weise eine scharf begrenzte Pilzschicht entsteht, die in der engsten Nachbarschaft des Gefäßbündels sich hinzieht. Interessant ist es, die Mikrotomserien der korallenartigen Mykorrhizen an den Stellen zu verfolgen, wo die Hauptwurzel mehrere Verzweigungen aufweist. An der richtigen Stelle des Präparats läßt sich dann manchmal feststellen, wie von der Stammwurzel ausgehend durch alle Auszweigungen der von dem Pilze ausgefüllte endodermale Strang, „die Pilzscheide" sich hinzieht, schon durch ihre Farbe von den anliegenden Geweben sich klar unterscheidend. In dickeren Schnitten erscheint sie nämlich dunkel gefärbt, was davon herrührt, daß, entgegen den Verhältnissen, die in der Wurzelspitze obwalten, wo nämlich die Wurzelfäden ein lockeres Geflecht bilden, sich hier die Hyphen lückenlos aneinander schmiegen, so daß in dünnen und schwächer gefärbten Schnitten die Zellen manchmal fein quer- oder längsgestreift aussehen. Die Hyphen der „Pilzscheide" sind dick, dünnwandig und führen zahlreiche Körnchen. Durch eine entsprechende Tinktion läßt sich nachweisen, daß sie ihre Wirtszellen sehr wahrscheinlich nicht zum Absterben bringen, denn diese Zellen enthalten stark tingierbare Zellkerne von normaler Struktur. Nur stellenweise flechten sich die Hyphen in den Endodermiszellen auf; sie zeigen in diesem Falle meistens einen reichlichen protoplasmatischen Inhalt.

Mit Ausnahme der Endodermis hat der Verfasser in anderen Schichten, welche dem Gefäßbündel parallel laufen, den Pilz bisher nicht gefunden. Daß der Pilz gerade in der Endodermis und in der Wurzelspitze endophytisch vorkommt, hängt vielleicht mit der erwähnten quantitativen resp. qualitativen Beschaffenheit der daselbst angehäuften „Gerb-

stoffe" zusammen, wie dies oben dargelegt wurde. Andererseits fällt dabei sicher stark ins Gewicht, daß die „Pilzscheide" in der nächsten Nähe des Gefäßbündels verläuft, einem Gewebe, welches sich durch den Reichtum an gelösten und ungelösten Kohlehydraten auszeichnet. Außerdem ist es möglich, daß in der Endodermis einige spezifische Nährstoffe angehäuft werden. Senft (1911) hat zum Beispiel durch die Anwendung von de Koningschem Reagens ($NaNO_2 + CoCl_2$) entdeckt, daß in der Stärkescheide der Blattgefäßbündel von Beta vulgaris eine Menge Kalium aufgespeichert wird.

Das Vorkommen des Pilzes in der Endodermis ist ein konstantes Merkmal der Fichtenmykorrhizen. Zwar kommen auch solche Fälle vor, wo die „Pilzscheide" nur in den älteren Teilen einer Mykorrhize zur Ausbildung gelangt, wobei die jüngeren Partien derselben pilzfrei — allerdings nur scheinbar — erscheinen, oder wo nur in einer geringen Länge in der Nähe der Wurzelspitze die Endodermiszellen verpilzt sind (dieser Fall ist einer von denen, die am seltensten vorkommen), oder endlich, wo in der Nähe eines Vegetationskegels einige Pilzscheidezellen vorhanden sind, worauf eine Zone von scheinbar pilzfreien Zellen folgt, zuletzt aber wieder eine längere Pilzscheide-Zone. In anderen Fällen scheint wieder die Pilzscheide nicht kontinuierlich zu verlaufen, sondern es gibt zwischen den infizierten einige Zellen, die wie leer aussehen. Dazu gesellt sich endlich die Erscheinung, daß in einigen Pilzscheidezellen die „Gerbstoffe" in einer größeren Menge angehäuft sein können, als in den anderen, so daß sie nach der stärkeren Tinktion die Pilzfäden zudecken, was den Nachweis des Pilzes darin erschwert. Doch reicht eine gewisse Übung aus, um den eventuellen „Gerbstoff"-Niederschlag von den mehr oder weniger regelmäßig verlaufenden Pilzfäden, welche außerdem oft klar den Zusammenhang mit den Hyphen der Nachbarzellen zeigen, zu unterscheiden.

Der Inhalt der Endodermzellen ist Veränderungen unterworfen. Diese Veränderungen kulminieren darin, daß der Pilz aus den Zellen nach einiger Zeit verschwindet. Dieser Prozeß verläuft jedoch nicht immer ganz regelmäßig. Meistens spielt er sich in der Nähe der Wurzelspitze ab, in einer kürzeren oder längeren Zone. Ein andermal überrascht er einzelne diskontuierlich liegende Zellen. Der Pilz wird in allen diesen Fällen seitens der Wirtszellen verdaut. Es zeichnen sich schon Anfänge dieses Prozesses durch gewisse Tinktionsmerkmale aus. Während nämlich diejenigen Endodermen, die unverdaute Pilzelemente enthalten, mit Gentiana (in der Dreifärbungsmethode: Heidenhain, Safranin $^1/_2$ Stunde, Gentiana 10 Minuten nach Tannin-Brechweinsteinbeizung)

tief blau sich färben, ist dies bei denjenigen Zellen, in denen die Pilze dem „Verdauungsprozesse" unterliegen, nur nach einem längeren Färben mit Gentiana zu erreichen; in diesen Fällen gewinnt Safranin Oberhand, so daß nur der Pilzmantel und die in den Interzellularen verlaufenden Hyphen blau erscheinen. Die Endodermhyphen werden dagegen tief rot differenziert, oder, wenn Hämatoxylin nicht durch das Differenzieren mit dem Eisenalaun ganz ausgewaschen wurde, rotbraun. Dabei kollabieren sie an mehreren Stellen ihres Verlaufes, an anderen nehmen sie eine homogene Färbung an und zerfallen endlich in Stückchen, welche zuerst ziemlich grob sind, allmählich aber kleiner und kleiner werden, bis sie manchmal fast nur wie ein griesförmiger Niederschlag aussehen und endlich vollkommen verschwinden. Diese Zellen sind es, die im Vorhergehenden als „scheinbar pilzfrei" beschrieben wurden. In Wirklichkeit enthielten auch sie vorher einen Pilz, der die Zellen vollkommen ausfüllte, in der Zeit jedoch, wo die Mykorrhizen fixiert wurden, die letzten Stadien der Verdauung durchmachte.

Der „Verdauungsmodus" verläuft hier augenscheinlich anders, als z. B. in den endophytischen Mykorrhizen der Orchideen, wo der Pilz bekanntlich in jeder Zelle als das Ganze degeneriert und zuletzt als ein klumpenartiger Körper in der „Verdauungszelle" übrig bleibt. Der ganze Prozeß erinnert nichtsdestoweniger lebhaft an Neottia, denn wir haben auch bei der Fichte eine scharf getrennte, wie ein Mantel in der Wurzel verlaufende Zone, welche aus einem Pilze besteht, und in welcher eine regelmäßige und beträchtliche Verdauung stattfindet. Dabei zeigt sich, zwar nicht immer, aber doch öfters ein gewisser Zusammenhang mit dem Wachstum der Wurzelspitze. In dieser scheint die endodermale Pilzbesiedelung mit der endophytischen Pilzmasse, die in den übrigen Parenchymzellen sich befindet, fast zusammenzufließen: dieselben Veränderungen, welche die letztgenannte durchmacht (davon wird gleich die Rede sein), spielen sich auch in der Endodermis ab.

Nun folgt aber unter der Wurzelspitze eine Partie, wo in der Rinde kein Pilz in einer größeren Menge zu konstatieren ist. In derselben Zone findet man manchmal in der „Pilzscheide" bloß die Verdauungsreste vor. In einer noch tiefer liegenden Wurzelzone kommt aber wieder die größtenteils intakte Pilzscheide zum Vorschein, und begleitet manchmal in einer beträchtlichen Länge die Mykorrhiza bis zu ihrem Ursprungsort an der Mutterwurzel. Ob in der letztgenannten Zone der Pilz in der Endodermis zum zweiten Male in denselben Zellen, in denen er vorher verdaut wurde, sich angesiedelt hat, oder ob er daselbst, als sich dieser Teil der Pilzscheide noch in der Nähe der Wurzelspitze befand, von der

Verdauung auf irgend welche Weise verschont wurde, darüber habe ich keine näheren Untersuchungen angestellt. Soviel ist jedenfalls sicher, daß die „Verdauungszone" sich in der nächsten Nähe von demjenigen Teil der Mykorrhiza, nämlich von der Wurzelspitze befand, in welchem eben die regste Differenzierung verbunden mit dem größten Nährstoffverbrauch, stattfindet.

Noch ausgeprägter sind die Verhältnisse in der Wurzelspitze selbst. (Hier wie im Vorhergehenden wird als Wurzelspitze der apikale Teil der Mykorrhiza mit Ausschluß des Meristems bezeichnet.) Wie gesagt, kommt es hier zu einer reichlichen endophytischen Infektion. Die gesamte Pilzmenge, welche hier vorkommt, wird hier aber ebenso reichlich verdaut. Das Fadengeflecht, welches die Zellen anfüllt, und welches aus meistens ziemlich feinen, doch plasmareichen Hyphen besteht, wird locker, und zerfällt in unregelmäßige, stark tingierbare Stücke, welche kleiner und kleiner werden und zuletzt als winzige Körnchen in den Zellen verbleiben oder spurlos verschwinden. Ganz von solchen Resten frei habe ich bisher keine Mykorrhiza der Fichte vorgefunden. Dagegen enthielten alle Würzelchen von dem Typus, welcher beschrieben wird, entweder den intakten Pilz in den Zellen, oder verschiedene Stadien seiner Verdauung. Auch mit Safranin schwach rosarot erscheinende Ausfüllungen wurden in den Zellen konstatiert, wahrscheinlich die verschleimten Reste der degenerierten Pilze. Es ist möglich, daß der Pilz in die Zellen der Wurzelspitze durch einige spezifische Stoffe, welche darin lokalisiert sind, angelockt wird. Andererseits ist es aber gerade auffällig, daß er hier nach einer Zeit so vollständig degeneriert, so regelmäßig „verdaut" wird, und daß dies nicht in einer ausgewachsenen, alten Wurzelpartie geschieht, welche eventuell in keinem Zusammenhang mit einem tätigen Gewebe, z. B. dem Gefäßbündel, stehen würde, sondern eben in einem Gewebesystem, das sich durch einen großen Nährstoffverbrauch auszeichnet. Schon aus diesem Grunde hält es der Verfasser nicht für berechtigt, wenn vor solchen und ähnlichen Erscheinungen die Augen geschlossen werden und diese Prozesse für bedeutungslos erklärt werden[1]). Im Gegenteil, man kann mit einem noch größeren Rechte die Infektion der Wurzelspitze für eine vorteilhafte Versorgung des Vegetationspunktes der Mykorrhiza mit der erforderlichen Pilzmenge halten.

---

[1]) Josef Fuchs, Über die Beziehungen von Agaricineen und anderen humusbewohnenden Pilzen zur Mykorrhizenbildung der Waldbäume. Bibliotheca botanica, Heft 76, 1911, S. 27.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden an dickeren, ausgewachsenen und nach der Färbung gut differenzierten Mykorrhizen ausgeführt. An den dünnen, wie Faserwurzeln aussehenden Mykorrhizen der Fichte ist es schon wegen der Kleinheit der Dinge und der schwer auszuführenden Differenziation nicht leicht festzustellen, welche Verhältnisse in den Wurzelspitzen der Mykorrhizen obwalten. Nichtsdestoweniger gelingt es manchmal auch in solchen schmalen Wurzelspitzen auf Grund der intakten Pilzfäden oder der Verdauungsreste, welche übrig bleiben, eine mehr oder weniger reichliche endophytische Infektion festzustellen. Ein Fall muß doch als eine Ausnahme herausgenommen werden. Zuweilen kann man Mykorrhizen antreffen, deren Wurzelhaube anstatt aus einer, wie dies gewöhnlich der Fall ist, aus drei bis vier Reihen vergrößerter, dünnwandiger Zellen besteht. Das Meristem wird dadurch sehr verringert, öfters erscheint es fast bis auf die Hälfte reduziert, und sieht sichelartig aus. Alle diese Zellen sind nun dicht von einem Pilzgeflecht ausgefüllt und es macht sogar den Eindruck, als ob sich der Pilz durch die Wurzelhaube in das Meristem einfrißt. In der ganzen Wurzelhaube findet eine regelmäßige Verdauung statt, dagegen sind die Flanken der Wurzelspitze frei von dem endophytischen Pilze. Auch in diesem Falle ist jedoch im ganzen die Menge des endophytischen Pilzes in der Wurzelspitze als eine beträchtliche zu bezeichnen.

Bei dieser Gelegenheit sei an die jungen Mykorrhizen erinnert, die noch in den Mutterwurzeln eingeschlossen sind oder welche das Rindengewebe eben durchwachsen. Sie sind durch und durch von zahlreichen Hyphen infiziert, welche ringsum die wenigen meristematischen Zellen in umfangreichen endophytischen Lagern umschließen und reichlich verdaut werden. Die Hyphen werden wohl zum Teil auf Kosten der Nährstoffe ernährt, welche sich in den jungen Würzelchen vorfinden. Andererseits ist es augenscheinlich, daß sie aus dem Gewebe der mütterlichen Mykorrhizen kommend schon gewissermaßen vorernährt sind, so daß sie nach der Verdauung schon in dieser Hinsicht einen bestimmten Gewinn für das junge Würzelchen vorstellen. Aber schon hier drängt sich die Frage auf, woher bekommen die Pilzfäden den Stickstoff, dessen sie sicher genug haben, wenn sie sich so reichlich vermehren können. Denn ihr Auswachsen findet in den Geweben statt, welche — es sind die Parenchyme — keine so große Menge Eiweißstoffe enthalten wie die Vegetationskegel, in denen aber wieder keine so reichliche Infektion Platz findet.

Die Fichtenmykorrhizen des zweiten Typus zeichneten sich durch eine sehr ausgedehnte endophytische Infektion aus. Sie stammten aus

einem anderen Walde als diejenigen des ersten Typus. An ihnen ließen sich jährliche Zuwächse durch Einschnürungen feststellen, welche stellenweise in der Rinde bis zu dem Gefäßbündel verliefen, und die aus wenigen Schichten von offenbar kutinisierten oder verkorkten Zellen bestanden. Durch dieselben grenzten sich wahrscheinlich die eben zu neuem Wachstum angeregten Vegetationsscheitel von dem älteren Wurzelgewebe ab. Von solchen Zuwachszonen wurden bei einigen Mykorrhizen mehrere, bis fünf, gefunden, so daß sich vielleicht auf ein ebenso hohes Alter bei ihnen schließen läßt. Es scheint auch aus dieser Tatsache zu folgen — ähnliche Zuwachszonen wurden übrigens auch bei anderen Typen von Mykorrhizen festgestellt —, daß die Bedeutung der Fichtenmykorrhizen kaum in der Bereicherung des Waldbodens durch die absterbenden Mykorrhizen liegen kann, als vielmehr in den Prozessen, die sich jährlich in den Spitzen der Mykorrhizen wiederholen (denn die Lebenserscheinungen, die der Pilz in den älteren Wurzelpartieen äußert, sind zu gering, als daß sie diesbezüglich in die Wagschale fallen können). Auch W. Magnus[1]) hat ähnliche Zuwachszonen in den Kiefernmykorrhizen beobachtet, glaubt indessen, daß die Metakutisierung nicht nur gegen den Winter zu, sondern bei jedem Wachstumstillstand der Mykorrhiza erfolgt.

Die endophytische Domäne des Pilzes hat sich nun immer über den ganzen Zuwachs des letzten Jahres erstreckt. Hier war sowohl die ganze Wurzelspitze als auch eine lange, unter ihr liegende Partie bis zu der ersten Einschnürung vollständig von dem Pilz ausgefüllt, welcher sich in den Rindenzellen befand. Er bildete hier sehr feine Geflechte, welche die ganzen Zellen ausfüllten, aus sehr dünnwandigen, plasmaarmen Hyphen bestanden, und meistens nur sehr schwach sich färben ließen. Auch in der Endodermis war der Pilz angesiedelt und bildete hier ebensolche, feine, graue oder schwarzrote Anfüllungen (Heidenhain, Safranin). Die Verdauung geschah auf eine andere Weise als in dem oben beschriebenen Falle: In den früher lückenlos ausgefüllten Zellen erschienen sehr feine, Gespinstfasern ähnliche Netze, welche nach einer Zeit spurlos verschwanden, ohne daß dabei wenigstens eine gewisse Differenz in ihrer Färbbarkeit zutage getreten wäre. Solche vollständig entleerte Zellen waren regelmäßig in der Zuwachszone von dem zweiten Jahre zu finden; nur in der Endodermis befanden sich in dieser Zone gröbere, mit Safranin sich rotfärbende Körnchen, Reste nach den verdauten Pilzfäden. In den noch

[1]) W. Magnus, Mycorrhiza. Sonderabdruck aus Botanische Wandtafeln mit erläuterndem Text von L. Kny, XIII. Abteilung, 1911, S. 530.

älteren Zuwachszonen war wieder die Rinde vollständig von dem endophytischen Pilze frei, dagegen kam hier regelmäßig die „Pilzscheide“ zum Vorschein, bisweilen aus diskontinuierlich infizierten Zellen bestehend, meistens aber aus ganz kontinuierlichen endodermalen Pilzsträngen.

Es fragt sich, auf welche Weise eine so außerordentlich reiche Infektion zustande kommen konnte. Die Würzelchen waren kurz, dicklich, reich korallenartig verzweigt, ihr Habitus und ihre Verzweigungsart erinnerte an den Knöllchentypus der Kiefernmykorrhizen. Doch waren diese Merkmale sicher sekundär, erst durch die reichliche Infektion hervorgebracht; aus ihnen folgt nur, daß eben durch eine solche reichliche endophytische Infektion der knöllchenartige Habitus der Mykorrhizen hervorgerufen wird. In einigen von diesen Mykorrhizen wurden aber fremde Pilzfäden angetroffen, sehr dicke kern- und plasmareiche Gebilde, welche in der Wurzelrinde verliefen. Es ist also möglich, daß durch ihre Anwesenheit die Mykorrhizen so abgeschwächt wurden, daß sie eine so weitgehende endophytische Infektion zuließen. Der Pilz wurde nichtsdestoweniger nicht in allen Mykorrhizen von diesem Typus angetroffen, auch nicht in einigen wenigen von dem ersten Typus, die auch in ihrer ganzen Länge insgesamt alle Zellen von dem Pilze ausgefüllt zeigten. Es ist also möglich, daß dieselben Faktoren, welche die enorme endophytische Infektion in dem geschilderten Falle herbeigeführt haben, auch sekundär dem Pilze es ermöglicht haben, in den Würzelchen sich zu behaupten.

Während alle oben geschilderten Mykorrhizen einen Pilzmantel besaßen, welcher die Vegetationsscheitel meistens rings umfaßte und nur in verhältnismäßig seltenen Fällen die Wurzelspitze frei ließ, zeichnen sich diejenigen von dem dritten Typus dadurch aus, daß der Vegetationskegel niemals in einem beträchtlichen Maße epiphytisch infiziert wird, daß der Pilzmantel reduziert, in der Form eines schwachen Überzugs erscheint, auch vollständig fehlen kann, bis zuletzt die Mykorrhiza sich bloß durch den Réseau auszuzeichnen scheint, welcher Art der Verpilzung aber gleichfalls Grenzen gezogen wird, bis das interzellulare Netzwerk undeutlich aussieht und eventuell überhaupt nicht mehr zur Ausbildung gelangt. Die Mykorrhizen der Nadelhölzer ohne Pilzmantel, bloß mit einem Réseau schildert übrigens schon Stahl in seiner bekannten Studie, auch Fuchs (a. a. O., S. 18) erwähnt ihr Vorkommen bei Pinus Strobus. Wenn nicht einmal der Réseau d'Hartig gebildet wird, dann erscheint die Wurzel makroskopisch wohl vollkommen von der Mykorrhiza frei. Eine genaue Durchmusterung der Serienpräparate lehrt jedoch, wenn dieselben allerdings mit geeigneten Fixierungs- und Färbungs-

methoden (Heidenhain, Safranin) hergestellt worden sind, daß hier noch eine endophytische Infektion vorliegt, auch in den Fällen, wo von der epiphytischen (zu der epiphytischen Infektion wird auch das Vorkommen des Pilzes in den Interzellularen gerechnet) selbst nur Spuren schwer zu konstatieren sind. Daß bei der Fichte auch ganz mykorrhizenfreie Würzelchen vorkommen, ist zweifellos. Die von dem Verfasser eben geschilderten Fälle wurden in einer Humusart gefunden, welche nicht allzu mächtig, doch sowohl aus Rohhumus als aus Mull zusammengesetzt war; zwischen den normalen, d. h. mit Pilzmantel usw. versehenen Mykorrhizen kamen hier jene von der epiphytischen Infektion frei erscheinenden Würzelchen vor, jedoch in engster Vergesellschaftung, verflochten usw. mit den letzteren und oft an älteren Teilen doch epiphytisch infiziert.

Es zeigen sich wieder die Wurzelspitzen von Pilzfäden durchdrungen, welche ihre Zellen in der Form von lockeren Geflechten ausfüllen (von den Flanken des Meristems beginnend bis weit hinter den Vegetationskegel sich erstreckend), es werden auch die Endodermzellen von dem Pilze besiedelt. In beiden Fällen läßt sich Verdauung konstatieren. Die Pilzfäden zeichnen sich oft durch eine beträchtliche Dicke aus, sie zerfallen bei der Verdauung in Stücke. Im ganzen ist auch hier die endophytische Infektion und die Verdauung eine beträchtliche zu nennen, obwohl die „Pilzscheiden“ öfters aus diskontinuierlich infizierten Zellen bestehen. Es scheint überhaupt, daß es dieselben Faktoren sind, die die Mantelbildung nicht zulassen, welche auch die geschilderte schwächere Infektion hervorrufen. Denn in den von demselben Standort zur Untersuchung genommenen Mykorrhizen, die Pilzmäntel hatten, waren kontinuierliche Scheiden vorhanden. Vielleicht war das rasche Wachstum der Würzelchen Ursache davon, daß die erwähnten Strukturen in den Mykorrhizen differenziert wurden. Ein Faktor scheint wenigstens etwas Licht in die Sache zu bringen. Die meisten von den geschilderten Mykorrhizen wurden an ihrem Standort gegen Ende Februar 1912 gesammelt, in der Zeit, wo gerade der Schnee in den Wäldern aufgetaut war und wo die verhältnismäßig warmen, hellen Tage sehr wahrscheinlich schon das neue Wachstum und auch die Bildung von neuen Mykorrhizen hervorgerufen haben. In einigen, mantelfreien Mykorrhizen war es auffallend, wie die in der Nähe der Wurzelspitze sich befindenden Endodermzellen aufgebläht waren; in diesen machten nun die Pilzkolonien die letzten Stadien der Verdauung durch. Auch war die Verdauung bei sehr vielen Würzelchen eine gleichmäßigere, als dies in gewöhnlichen Mykorrhizen der Fall ist, so daß es schien, als ob sich die Würzelchen

in dem Stadium eines großen „Pilzverbrauches“ befänden. Wahrscheinlich wurden also die Wurzeln durch das milde Wetter zu schnellem Wachstum angeregt, durch den raschen Verlauf desselben haben sie sich vor der Bildung der Pilzmäntel „gerettet“, gleichzeitig wurden dem Pilz oft auch bei seinem interzellularen Auftreten Schranken gezogen, die endophytische Infektion erlitt jedoch dabei nur eine sehr schwache Beschränkung.

Der letztgenannte Umstand bezeugt aber wohl besser als andere Erwägungen, daß die „echten“ Tendenzen des Pilzes diejenigen nach dem endophytischen Leben sind und daß die ektotrophen Charaktere der Mykorrhizen durch gewisse physiologische Merkmale der Würzelchen (langsames Wachstum, Produktion von „Gerbstoffen“ von einer bestimmten Konzentration usw., was übrigens mit dem ersten Faktor in Zusammenhang stehen kann) bedingt werden. Der Hauptcharakter der Fichtenmykorrhizen ist ihr Endophytismus und die mit demselben verbundenen Folgeerscheinungen, eine weitgehende Verdauung der Pilzfäden; dagegen trägt die Differenzierung des Pilzmantels und des Réseaus, von einem kausalen Standpunkt aus betrachtet, den Charakter einer sekundären Erscheinung.

Dadurch sind wir zur Schilderung der Mykorrhizen von dem vierten Typus gelangt. Ich rechne zu denselben, obzwar von einer scharfen Abgrenzung verschiedener „Kategorien“ kaum die Rede sein kann, die schon z. T. besprochenen Mykorrhizen des rohen Humus der Fichtenwälder, insbesondere die Mykorrhizen aus denjenigen Beständen, wo der Rohhumus mächtigere Lager bildet. Nichtsdestoweniger handelt es sich keineswegs bei diesem Falle der Humusbildung um etwaige pathologische Bildungen der Streudecke des Waldbodens, die Bestände waren gesund, die Bäume erreichten eine beträchtliche Höhe; übrigens waren öfters die „Filzschichten“ auch in jungen, noch ganz „geschlossenen“ Beständen vorhanden. Am Fuß der Bäume erreichten die Humusschichten zuweilen eine Höhe von mehreren Dezimetern und bestanden in vielen Fällen aus einem lockeren Gemisch von herabgefallener Nadelstreu und von zahlreichen Mykorrhizen, welch beide Komponenten sich oft durch ein loses Schütteln voneinander trennen ließen. Charakteristisch war für diese „Formation“, daß die Mykorrhizen sich so reich verzweigten und so dicht verflochtene Nester von einem größeren oder geringeren Umfang bildeten, daß es sich als das vorteilhafteste erwies, solche Klumpen im ganzen zu fixieren und nach der Überführung ins Paraffin in toto zu schneiden, durch welches Verfahren öfters mehr als sechs Stück Mykorrhizen auf einmal von einem Mikrotomschnitt getroffen wurden

und auch in ihrem event. Zusammenhang, in ihrer verschiedenen Art der Differenzierung usw. studiert werden konnten.

Die einzelnen Mykorrhizen zeichneten sich durch ihre kleinen Dimensionen aus, insbesondere aber dadurch, daß sie dünn waren. Manche von ihnen ähnelten in dieser Hinsicht so stark den gewöhnlichen Faserwurzeln, daß sie sich als Mykorrhizen erst bei der cytologischen Durchmusterung der gefärbten Präparate verrieten und auch die dickeren von ihnen bei der Lupenbetrachtung oft nicht gleich als solche sich erkennen ließen. Es sei hier gleich bemerkt, daß dafür die ungleich starke Infektion verantwortlich gemacht werden muß. Die gewöhnlichen, das heißt mit einem Pilzmantel und einem Réseau versehenen Mykorrhizen waren, wie es sich an Paraffinpräparaten zeigte, auch zahlreich vorhanden. Sie zeigten auch regelmäßig eine endophytische Infektion in der Endodermis, die Verhältnisse in den Wurzelspitzen waren jedoch leider meistens wegen der Kleinheit der Dinge nicht zu enträtseln. Pilzmäntel waren meistens von einer geringeren Höhe, als man sie bei den Mykorrhizen vorfindet. Weiter kamen in diesen Schichten zahlreiche Mykorrhizen vor, bei welchen die epiphytische Infektion auf den Réseau beschränkt war; auch in diesen waren die „Pilzscheiden" vorhanden. Endlich waren in Präparaten viele kurze, dünne Würzelchen anzutreffen, welche gar keine Pilzmäntel, auch keinen Réseau, sondern höchstens einen dünnen Pilzüberzug an ihrer Oberfläche besaßen, und auch dieser letztere bestand meistens nur aus locker verlaufenden Fäden oder verschwand vollständig, so daß auch in fixierten Präparaten keine Spur von der epiphytischen Infektion zu sehen war. In Zusammenhang damit war auch der „Gerbstoffniederschlag" in den Rindenzellen der Würzelchen nur spärlich. Zweifellos gehörten viele von diesen Gebilden zu gewöhnlichen, nicht infizierten Seitenwurzeln, welche nicht dazu „bestimmt" waren, zu längeren Hauptzweigen mit der Zeit auszuwachsen, sondern bald abgestorben wären. Dies gilt jedoch nicht für alle. In mehreren von ihnen wurde trotzdem, daß, wie gesagt, keine Spur von der epiphytischen Infektion an ihnen zu entdecken war, eine größere oder kleinere Menge von Endodermiszellen gefunden, die von dem Pilze besiedelt waren. Auch kontinuierliche „Pilzscheiden" kamen zum Vorschein; in ihnen fand die Verdauung statt. Sie standen im Zusammenhang mit den endodermalen Pilzscheiden der Mutterwurzeln, in welchen sie offenbar ihren Ursprung genommen haben, und zogen sich bis zu dem Vegetationskegel hin. In den Fällen, wo eine schwächere endophytische Infektion zustande kam, wurden die Pilzscheidezellen bloß in der Basis der Seitenwürzelchen konstatiert. Es ist aus diesen eklatanten Beispielen ersichtlich,

daß die endophytische Infektion nicht an die epiphytische gebunden sein muß, sondern daß sie vollständig unabhängig von der letzteren stattfinden kann. Sie ist es, die für die Fichtenmykorrhizen am bezeichnendsten ist, indem sie in zahlreicheren Fällen vorkommt als die epiphytische.

Weiter hat sich durch das Studium der Mykorrhizen von diesem Typus gezeigt, daß hier die Infektion verschiedene Stufen durchlaufen kann, unter welchen sie in einigen Fällen — was die Art ihrer Entstehung betrifft — als „labil“ bezeichnet werden muß, in anderen wieder kein langes Fortdauern aufweist. Denn es wurden auch mehrere solche Mykorrhizen in Präparaten konstatiert, welche zwischen den anderen, gesunden sich befindend, vorzeitig abgestorben waren, folglich nicht zu einer weiteren Differenziation gelangten, wie dies sonst bei den Mykorrhizen von anderen Standorten vorkommt. Es ist sicher für die Eruierung der Ätiologie des Zustandekommens der Symbiose von einer gewissen Bedeutung, wenn neben den Fällen der vollkommensten gegenseitigen „Anpassung“ auch die primitiven Vorstufen derselben zu konstatieren sind.

II.

Was die Mykorrhizen der Kiefer (Pinus silvestris L.) betrifft, so wurden dieselben in dem Stadium der Entwickelung gesammelt und fixiert, wo die weißlichen, angeschwollenen Spitzen ihren frischen Ursprung verrieten und schon ihr makroskopisches Aussehen die Vermutung zuließ, daß sich die für die Realisierung der Mykorrhizen wichtigsten Vorgänge ebendaselbst abspielen müssen.

In der Tat hat der Verfasser schon die meristematischen Partien der Vegetationskegel infiziert gefunden, und die Hyphen, welche haustorienartig in das Innere der nach Heidenhain sich noch ziemlich schwarz färbenden Zellen eindrangen, außerdem in den Interzellularen sich befanden, waren recht zahlreich. Viele kleine Stärkekörner ließen sich in der Nähe von noch sich teilenden Meristemzellen ausfindig machen. Sehr wahrscheinlich wurde durch die Anwesenheit des Pilzes schon in der meristematischen Zone die Lokalisation der Stärke daselbst herbeigeführt, und der Vegetationskegel nahm dadurch den Charakter eines Knöllchens an. Vielleicht liegt auch in dieser frühzeitigen Infektion der meristematischen Zellen, welche reichlicher als bei der Fichte ist, Ursache zur dichotomischen Verzweigung der Mykorrhizen.

Auch die Rindenzellen der verknollten Partien der Vegetationskegel der Mykorrhizen zeichnen sich durch endophytische Infektion aus, welche sich meistens durch die ganze angeschwollene Zuwachszone erstreckt. Dünne Hyphen bilden darin zahlreiche, jedoch nicht geschlossene Knäuel.

Die Hyphen retrahieren sich dann in den unteren Partien des Vegetationskegels zu den Endodermzellen und füllen auch ihre Lumina mit einem dichten Geflecht aus. Die „Pilzscheiden“ erstrecken sich entweder weiter nach unten, sie können die Mykorrhizen ihrer ganzen Länge nach durchlaufen, oder sie bleiben auf kürzere Zonen, selbst auf eine kurze Entfernung von dem Vegetationskegel beschränkt. In allen diesen endophytisch infizierten Gewebepartien läßt sich eine weitgehende und regelmäßige „Verdauung“ konstatieren. Den ausgeprägten Fall einer solchen hat eine Exkursion Ende Februar geliefert: Die Zellen der Rinde in den „Knöllchen“ sowie die Endodermis waren bis auf regelmäßig vorkommende Fadenstücke und spärlichen, mit Safranin sich rotfärbenden Schleim fast von dem Pilze frei, sie sahen wie „ausgefegt“ aus. Insbesondere die Zellen der Endodermis waren aber stark aufgebläht, weil offenbar ihr Turgor durch die plötzliche Verdauung des Pilzes eine Steigerung erfuhr.

In älteren Partien der Mykorrhizen war meistens die Infektion auf die Interzellularen beschränkt (die studierten Mykorrhizen von Pinus besaßen immer einen Pilzmantel, welcher sich rings um den Vegetationskegel zog; seine Oberfläche war meistens glatt, höchstens auf eine kleine Entfernung von der Wurzel verliefen die Hyphen, welche in der Peripherie des Mantels Ausgang genommen haben), nur kurze Haustorien waren in den Zellen, welche wie bei den Fichtenmykorrhizen von „gerbstoffähnlichen“ Stoffen angefüllt waren und stellenweise Stärkekörner enthielten, zu konstatieren. Wenn schon die Haustorien, was nur in den ältesten Wurzelpartien ab und zu geschah, weiter auszuwachsen angefangen haben, so machten sie höchstens einige Schlingen und ihr Wachstum hörte bald auf. Diese Tatsache scheint mit der Auffassung von Fuchs (a. a. O. S. 24) übereinzustimmen, nach welchem Autor das Hartigsche Flechtwerk in älteren Rindenpartien aus lauter toten Hyphen besteht, folglich gewissermaßen ein Skelett vorstellt. Denn wenn dieses Geäst in älteren Partien von noch jungen, frischen Pilzfäden gebildet wäre, dann dürfte man erwarten, daß dieselben in die älteren, abgeschwächten Rindenzellen in Menge einwachsen würden. Man findet aber das Gegenteil, denn auch in den Fällen, wo die Mykorrhizen ihrer ganzen Länge nach die Rindenzellen von Pilzfäden angefüllt hatten (was aber gar nicht regelmäßig, geschweige denn konstant in dem Material des Verfassers zu konstatieren war, sondern eher eine Ausnahme von der Regel bildete), standen die Pilzmassen der älteren Mykorrhizapartien in Verbindung mit der endophytischen Infektion, die von den Flanken des Vegetationskegels ausging, und es ist sehr wahrscheinlich,

daß schon die Verhältnisse, welche bei der Anlage und bei den ersten Stadien der Differenzierung des Vegetationskegels in einer solchen jungen Mykorrhiza obwalteten, andere waren als in gewöhnlichen Fällen und daß diese noch ganz kurze Mykorrhiza dazu „prädestiniert" war, in ihrer ganzen Körperlänge während ihres Auswachsens endophytisch infiziert zu werden[1]).

Andererseits halte ich es für ganz verfehlt, wenn a priori solchen Bildungen wie sie z. B. das Hartigsche Flechtwerk vorstellt, jede Bedeutung abgesprochen würde, nur aus dem Grunde, weil momentan sich kein „Zweck" für dieselben ausfindig machen läßt. Die von den Pilzfäden auf eine eigentümliche Weise umsponnenen Zellen haben ein sehr eigenartiges Gepräge, welches z. B. an die Wassertracheïden erinnert. Und wer kann bei dem jetzigen Stadium der physiologischen Durchforschung des Mykorrhizenproblems an die Widerlegung z. B. der Frage denken, ob nicht das interzellulare Fadengeflecht — wenn auch seine Komponenten farblos sind und bald absterben — durch seine so große Oberfläche Sauerstoff oder Stickstoff adsorbiert[2])?

Der Pilz bleibt in den Kiefernmykorrhizen nicht immer auf die Endodermis beschränkt. Es wurden von mir einige Fälle konstatiert, wo er noch tiefer, in dem stärkereichen Gefäßbündel selbst angetroffen wurde. Seine Fäden zeichneten sich dabei durch eine beträchtliche Dicke aus, doch war es ausgeschlossen, daß hier eine Verwechselung mit einer anderen, akzessorisch in den Mykorrhizen vorkommenden Pilzspecies vorkäme, weil der Zusammenhang der Fäden, welche in dem Gefäßbündel verliefen, mit den endodermalen Hyphen klar war. Ob auch in diesem Gewebe der Pilz der Degeneration unterlag, konnte der Verfasser mit Sicherheit nicht feststellen. Seine parasitischen Tendenzen treten aber durch solche Erscheinungen klar zutage, wie es auch schon oben bei der Fichte erwähnt wurde. Und obwohl diese Tatsache für die kausale

[1]) Bei v. Tubeuf (Beiträge zur Mykorrhizafrage. I. Über die Ernährung der Waldbäume durch Mykorrhizen. Naturwissenschaftl. Zeitschr. für Land- u. Forstwirtschaft 1903, 1. Jahrg.) findet der Verfasser eine Abbildung (S. 81) von einem Querschnitt einer Kiefernmykorrhiza, bei welcher auch das Zellumen der Rindenzellen von Pilzfäden erfüllt ist. Diese Pilzfäden sollen erst da auftreten, wo die äußeren Pilzumscheidungen sich verringern. Wie oft v. Tubeuf eine ähnliche Ausbreitung des endophytischen Pilzes in den Kiefernmykorrhizen angetroffen hat, ist aus seinen Angaben nicht zu ersehen. Der Verfasser hat nicht einmal auf anderen Standorten eine solche Infektion allzu oft vorgefunden und muß nochmals betonen, daß sie keineswegs regelmäßig anzutreffen ist, so daß sie zur konstanten Charakteristik der Kiefernmykorrhizen nicht gehören kann.

[2]) Vgl. z. B. die Arbeit von Shibata, Untersuchungen über lockere Bindung von Sauerstoff in gewissen farbstoffbildenden Bakterien und Pilzen. Pringsheims Jahrbücher f. wiss. Botanik 1912, Bd. 51, S. 180.

Erforschung der Prozesse, durch welche der Bau einer Mykorrhiza zustande kommt, von großer Wichtigkeit ist, so fällt sie nichtsdestoweniger nicht so sehr ins Gewicht, als ein Beweis von der eventuellen Unnützlichkeit der Mykorrhizen für den Baum, wie es scheinen würde[1]). Denn es wurden von Hiltner[2]) auch in den Knöllchen der Leguminosen parasitische Tendenzen bei den symbiotischen Bakterien entdeckt und doch kann kein Zweifel von deren sogar landwirtschaftlich hohen Bedeutung bestehen. Offenbar kommen bei dem Zustandekommen der symbiotischen Organe viele Regulationsprozesse ins Spiel; nur als Resultat eines gegenseitigen Kampfes der beiden Komponenten kommt ein solches Gebilde zutage.

Im ganzen sind auch die Pilzwurzeln von Pinus silvestris Organe mit einer mehr oder weniger reichen endophytischen Infektion. Ein gewisser Unterschied gegenüber der Fichte ist darin zu konstatieren, daß die endophytischen Pilzmassen sich mehr zu Vegetationskegeln konzentrieren. Ja, gerade in dieser Spitzeninfektion liegt das Spezifische der Kiefernmykorrhizen. Von diesem Gesichtspunkt aus ist auch die regelmäßige und wiederholte Verzweigung der Mykorrhizen zu beurteilen. Gerade in diesen Wurzelpartien findet die stärkste Infektion und die regste Verdauung des Pilzes statt. Derselbe Ort zeichnet sich aber gleichzeitig durch eine rasche Zellvermehrung und überhaupt durch eine intensive Tätigkeit der Gewebe aus. Wenn wir uns nun an ähnliche Vorkommnisse erinnern, welche in den Knöllchen von Leguminosen sich abspielen, denen die Knöllchen der Kiefernmykorrhizen so außerordentlich ähnlich sind, so können wir schon in Anbetracht dieser Tatsachen ruhig über die Angaben derjenigen Autoren, welche die epiphytischen Mykorrhizen insgesamt als für die höhere Pflanze nutzlose Gebilde erklären, zur Tagesordnung übergehen.

---

[1]) Dasselbe gilt von den Angaben von Fuchs (a. a. O. S. 27), nach denen die infizierten Zellen von den jungen Fichtenpflanzen mit Heftigkeit abgeschürft werden. Übrigens wären diesen Angaben die Beobachtungen des Verfassers gegenüberzustellen, welche sich auf die von den älteren Fichtenbäumen gebildeten Mykorrhizenschichten beziehen, in denen auch mehrjährige Mykorrhizen gefunden wurden, die sich noch nicht des Pilzmantels, des Réseaus usw. entledigt hatten, und welche außerdem die älteren Rindenpartien frei von dem endophytischen Pilze aufwiesen. Sie besaßen auch die „Pilzscheiden“ und die „Spitzeninfektion“, offenbar ist es hier „im Laufe der Äonen zu einer dauernden Einrichtung gekommen“.

[2]) Hiltner, Die Bindung von freiem Stickstoff durch das Zusammenwirken von Schizomyzeten und Eumyzeten mit höheren Pflanzen, in Lafars Handbuch d. techn. Mykologie, Bd. 3, 1904, S. 24. — Vgl. auch Peklo, Die pflanzlichen Aktinomykosen. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt., Bd. 27, 1910, S. 78 und 79.

III.

Wenn wir nochmals rasch die Resultate der cytologischen Untersuchung der Fichten- und Kiefernmykorrhizen überblicken, so muß die konstante endophytische Infektion der Wurzeln hervorgehoben werden. Sie tritt in der Wurzelspitze oder in der Endodermis auf, in der Mehrzahl der Fälle an beiden Orten. Sie kann reichlicher oder geringer sein, je nach der Differenziationsstufe der Mykorrhizen oder je nachdem, welches Stadium der Verdauung in einem bestimmten Falle vorliegt. Als hinfällig bezeichnen muß der Verfasser jedenfalls die Angaben von Fuchs (a. a. O., S. 17), nach denen die endotrophe Mykorrhiza bei Pinus nur gelegentlich auftreten dürfte. Auch kann es sicher nur auf mangelhaften Präparationsmethoden beruhen, wenn derselbe Autor (S. 27) ebenso wie Mangin die endotrophe Infektion nur in älteren Schichten der Mykorrhizen gefunden zu haben glaubten[1]) und dabei bei der Fichte sowie bei der Kiefer das fast konstante Vorkommen der „Pilzscheide“ sowie das außerordentlich häufige Vorkommen der endophytischen Infektion in den Wurzelspitzen ganz übersehen haben. Gerade die letztgenannte Erscheinung ist für die frischen, jungen Mykorrhizen, welche, wenn sonst, so nur in diesem Stadium von Bedeutung für die Bäume sein können, charakteristisch; die andere Art der Infektion ist dagegen mit bestimmten Bedingungen verknüpft. Außerdem verläuft auch bei der Buche die endophytische Infektion, falls es zu ihr kommt, anders (wie dies der Verfasser in seiner Arbeit 1910, II, S. 12 gezeigt hat und in der definitiven Publikation noch darlegen wird), als es nach den Angaben Mangins[1]) scheinen würde.

B. Isolierung der Mykorrhizenpilze.

Das konstante Auftreten der endophytischen Mykorrhizen bei der Fichte und bei der Kiefer, der knöllchenartige Habitus derselben bei der letztgenannten Pflanze, die Infektion in den Wurzelspitzen sowie die Beziehungen, welche zwischen der Verdauung der Pilzmasse und dem Wachstum des Wurzelsystems stattfinden und die Frage auftauchen lassen, ob es sich hierbei nicht auch um die Beeinflussung des Gesamtwachstums der Pflanze handelt, geben der Vermutung Raum: gehören die Mykorrhizenpilze nicht in die Kategorie derjenigen Mikroorganismen,

[1]) L. Mangin, Introduction à l'étude des mycorrhizes des arbres forestiers. Nouv. arch. du Muséum d'Hist. Nat., 1910, 5. série, 2, S. 247—276. Zitiert nach dem Referat Burgeffs in Zeitschr. f. Botanik, 3. Jahrg., 1911, S. 773.

die die Fähigkeit besitzen, elementaren Stickstoff zu assimilieren und bereichern sie nicht durch ihr intrazellulares Auftreten die Wirtspflanzen an diesem wertvollen Nährstoff?

Als erste Aufgabe bei der Lösung des physiologischen Teils des Problems ergab sich folglich, die Mykorrhizenpilze zu isolieren. Dies geschah bei der Fichte in folgender Weise:

Die Isolation der Pilze wurde in den Monaten Mai, Oktober und Dezember 1911 ausgeführt. In der zweiten Hälfte dieses Jahres wurde die Arbeit durch den Umstand sehr erschwert, daß durch die vorausgegangenen, regenlosen heißen Tage der Humus sehr dürr war, so daß junge, ganz frische Mykorrhizen, wie sie zur Isolation nötig sind, nur in kleiner Anzahl in den Wäldern vorgefunden wurden. Das Material stammte aus alten, schönen, ausgedehnten Beständen Mittelböhmens; die Humusdecke bestand aus einem mittelmäßig kompakten, frischen Rohhumus, welcher an feuchten Böschungen in Mull überging. Nach einer gründlichen Auswaschung mit Leitungs- sowie mit destilliertem Wasser wurden aus dem Mykorrhizengeflecht junge, aber trotzdem ziemlich dicke, d. h. mit einem dicken Pilzmantel versehene, bräunlich gefärbte Mykorrhizen ausgewählt, welche eine ganz glatte Oberfläche besaßen, so daß die Gefahr beträchtlich verringert sein dürfte, daß mit der Mykorrhize in das Kulturmedium Sporen von fremden Pilzen usw. übertragen wurden, wie dies besonders zu befürchten wäre, wenn zu den Versuchen Mykorrhizen mit einer haarigen oder flockigen Oberfläche genommen würden. Auf einem sterilisierten Objektträger wurde durch einen kurzen Schnitt mit sterilisiertem Rasiermesser unter dem Binokularmikroskop ein sehr kleiner Teil des Vegetationskegels selbst oder wenigstens ein Stück der Mykorrhize in der unmittelbaren Nähe desselben abgeschnitten; die Länge der abgeschnittenen Partie war niemals größer als 0,3 mm. Mittels sterilisierten Nadeln wurde dann das Stück rasch auf Agarplatten gebracht, welche entweder mit dem Auszug von Fichtenhumus oder mit dem Dekokt aus Fichtenmykorrhizen zubereitet waren. Die Humusproben stammten aus denselben Beständen, wo die Mykorrhizen gesammelt worden waren. Der Auszug wurde kalt hergestellt, der Dekokt in der Weise, daß die Mykorrhizenmasse mit überschüssigem destilliertem Wasser zuerst eine Stunde lang gekocht, dann bei 60° C in dem Thermostaten 24 Stunden stehen gelassen wurde. Der Dekokt schien zur Hervorrufung des Wachstums bei den Mykorrhizapilzen besser geeignet zu sein als der Humusauszug. Es wurde zu ihm gegriffen, weil ein ähnlich hergestelltes Medium sich dem Verfasser auch zur Isolierung der Pilze der Buchenrohhumusmykorrhizen als ausge-

zeichnet erwiesen hatte[1]). Die chemische Zusammensetzung des Buchendekokts dürfte jedoch von demjenigen aus den Fichtenmykorrhizen insofern abweichend sein, als in den Pilzwurzeln der Fichte auch Stärke (in den Rindenzellen) lokalisiert wird, so daß infolgedessen auch „freie", nicht glykosidisch gebundene Zuckerarten darin zu erwarten sind. Auch wurde von dem Verfasser bisher nicht festgestellt, ob die Réseauhyphen bei der Fichte die „Gerbstoffe" aus den Rindenzellen der Mykorrhizen aussaugen, wie dies bei den untersuchten Rohhumusmykorrhizen der Buche der Fall war. Dann wurden mit denselben Flüssigkeiten auch zahlreiche hängende Tropfen hergestellt; die Mykorrhizen wurden dabei entweder der Länge nach halbiert und mit der Schnittfläche dem Deckglase zugewandt in dem Tropfen aufgehängt oder es wurden aus ihnen mediane Lamellen herausgeschnitten. In diesen Tropfen blieb sehr oft die Fremdinfektion (von der Oberfläche der Pilzmäntel oder überhaupt durch irgendwelche Verunreinigungen) aus. Monatelang blieben zahlreiche Präparate, in denen die Keimung der Mykorrhizenpilze nicht stattgefunden hatte oder in denen die hervorgesproßten Mantelfäden ihr weiteres Wachstum eingestellt hatten, indem der Mykorrhizapilz durch die Isolierungsflüssigkeit nach einiger Zeit zum Absterben gebracht wurde, von jeder Bakterien- oder Schimmelpilzinfektion frei.

Meine Erfahrungen mit den Buchenmykorrhizen ließen die Erwartung zu, daß auch die Pilze der Fichtenmykorrhizen sich zum Wachstum bringen lassen werden. Dies gelang auch tatsächlich und es fingen in den hängenden Tropfen nach einer kurzen Zeit die meristematischen, in der Nähe des Vegetationspunktes verlaufenden Hyphen an herauszuwachsen, zu keimen. Die Hyphen, welche aus dem Pilzmantel herausgesproßt waren, erwiesen sich recht zahlreich; jedenfalls war es leichter, die Pilze der Fichtenmykorrhizen zu einem neuen Wachstum zu bringen, als dies der Verfasser bei den ausgewachsenen, hochdifferenzierten und Sklerotien vorstellenden Pilzmänteln der Buchenmykorrhizen erfahren hat. Vollkommen sicher konnte leider nicht festgestellt werden, daß bloß die Mykorrhizenpilze, obwohl das Auswachsen der Mantelpilze in das Nährmedium Schritt für Schritt verfolgt werden konnte, in diesen Fällen ausgekeimt haben. Trotz ihrer relativen Dicke waren nämlich die Pilzmäntel doch nicht so umfangreich, daß es ausgeschlossen wäre, es hätten keine von den Sporen, welche sich an der Oberfläche der Mykorrhizen vielleicht befunden haben, ausgekeimt, die Mantelschicht stellenweise durchgebrochen und sich zu den auswachsen-

[1]) Vergl. Peklo, 1908, a. a. O., S. 241; 1910, II, S. 23—40.

den Mantelhyphen zugesellt. Die Struktur der Mäntel der Fichtenmykorrhizen ist nicht soweit differenziert, daß etwaige Unterschiede in der Beschaffenheit der einzelnen Pilzmantelschichten vorkämen, wie dies bei der Buche der Fall ist, was, mit anderen Umständen, die Beobachtung der auskeimenden Hyphen in diesem Falle wesentlich erleichtert. Nichtsdestoweniger wurden einige Tropfen vorgefunden, wo viele Mantelhyphen rasch auskeimten und in dem Tropfen auswuchsen. In einigen von diesen Fällen war es nun sehr wahrscheinlich, daß die in dem Tropfen sich befindenden Pilzmassen dem Mykorrhizapilz allein ihren Ursprung verdankten. Sie wurden auf Agar übertragen und weiter kultiviert. Doch konnte wieder nicht mit aller Sicherheit festgestellt werden, daß der Mantel nur aus einem einzigen Pilz bestand. Einige, an jüngeren Mykorrhizen gelegentlich gemachte Beobachtungen ließen nämlich doch die Möglichkeit zu, daß sich zuweilen den Hyphen, welche es versuchen, zwischen die Rindenzellen einzudringen, noch andere, obwohl nicht zahlreiche, zugesellen, welche später in den lockeren Pilzmänteln zwischen den ersteren verlaufen. Außerdem wurden an der Oberfläche der Pilzmäntel einiger Buchenmykorrhizen Hyphen vorgefunden, die vielleicht an den Mykorrhizen selbst parasitiert haben.

Demgegenüber ergab die Isolierung mit Hilfe der Agarplatten zwei ganz sichere Fälle, in welchen das betreffende Bruchstück zu einem Myzel herausgesproßt war, welches, nach den untrüglichen Merkmalen, die der Verlauf der Kultur lieferte, allein die Mykorrhize gebildet hatte. Kein einziges Mal wurde bei der mikroskopischen Kontrolle konstatiert, daß sich an der Oberfläche des Stückes ein Myzel zu bilden begann, was auf eine Infektion mit einer dahin übertragenen Spore hinweisen würde. Dagegen wurden viele Hyphen bemerkt, wie sie von der dem Agar zugewandten Schnittfläche auf dem Agar auszuwachsen begannen. Nun konnte dies vielleicht dadurch hervorgerufen worden sein, daß nur diejenigen fremden Pilzkeime auswuchsen, die sich auf dem Pilzmantel in der Nähe des Agars, des Mediums, welches viele Nährstoffe enthielt, befunden haben; nach dem Durchwachsen des Randes dürften sie dann von dem Mykorrhizabruchstück auf den Nährboden übergangen sein. Glücklicherweise waren aber diese Partien ziemlich durchsichtig, so daß mit einer guten Linse, z. B. mit Apochromat 0,90, die Provenienz dieser kurzen, jungen Pilzhyphen festgestellt werden konnte. Es konnten auf diese Weise mehrmals die Stellen in den unteren, plasmareichen Partien des Pilzmantels herausgefunden werden, wo eben die mütterlichen, noch gelben Hyphen sich in weißliche, neue Aussprossungen verlängerten, die in der Zeit, wo sie mikroskopiert wurden, schon auf dem Agar verliefen.

Sobald nun eine Gruppe von ähnlichen Hyphen, von welchen bei mehreren der Ursprung sich gut eruieren ließ, ein kleines Myzelium auf dem Agar gebildet hatte, wurde dieses mit einer flachen Platinnadel aus dem Agar herausgestochen. Außerdem wurde das Impfstück vorsichtig, um den Verlauf der freien Hyphen nicht zu stören, unter dem binokul. Mikroskop von dem Agar abpräpariert, nach der Fixierung mit Formalinalkokol mit Chloralhydrat durchsichtig gemacht und nochmals einer mikroskopischen Kontrolle unterworfen. Auf diese Weise wurden außer den zwei oben genannten Fällen bei noch anderen, mehreren Impfstücken nach einer Zeit ganze Gruppen von Hyphen beobachtet, wie sie bei ihrem Auswachsen aus den inneren Mantelpartien auf das Agar übergingen. In jenen uns am meisten interessierenden, schon genannten zwei Fällen, waren es nun ganze Legionen von Hyphen, welche ohne jeden geringsten Zweifel teils in den äußersten Réseauhyphen, teils in den innersten Mantelschichten ihren Ursprung genommen haben. Es konnte bei den Hyphen entweder ihr bogenförmiges Einbiegen zu einem interzellularen Réseaufaden konstatiert werden, oder der Reihe nach die Stellen ausfindig gemacht werden, an welchen sich zahlreiche, jetzt plasmareiche und weißliche Pilzfäden von den gelblichen Stammhyphen der innersten Mantelschicht abzweigten. In einem von jenen zwei Stückchen wurde bei der Präparation der Pilzmantel von dem Wurzelgewebe, Réseau usw. abgerissen und mit der ganzen inneren Fläche dem Agar aufgelegt. Diese ganze Fläche wurde von meristematischen Hyphen gebildet, die an die „Gerbstoffhyphen“ der Buchenmykorrhizen erinnerten, Hyphen, welche in hängenden Tropfen so gerne auszukeimen pflegen (Peklo 1909, S. 242; 1910, II, S. 9, 31): in der Tat sind sehr zahlreiche von diesen, meistens noch parallel verlaufenden Hyphen, wie sie dem Agar aufgelegt waren, herausgesproßt und konnten in ihrem ganzen Verlauf von ihrem Ursprungsort bis zu der Stelle, wo sie mit der Nadel von dem kleinen, zur Bildung der Konidienträger sich erst anschickenden Myzelium abgebrochen wurden, verfolgt werden. Über die gelungene Isolierung konnte also nicht der geringste Zweifel bestehen. Selbstverständlich mußte eine große Anzahl von ähnlichen Impfkulturen angelegt werden, bevor — vielleicht durch einen glücklichen Zufall — jene zwei Impfstücke gefunden wurden, die so klare und eindeutige Verhältnisse geliefert haben.

Die systematische Stellung des von dem hängenden Tropfen aus isolierten Pilzes (im folgenden wird dieser als A bezeichnet) konnte noch nicht ermittelt werden, weil der Pilz keine eigenartigen Konidien, noch Konidienträger bildet. Die beschriebenen zwei Agarfälle lieferten

zwei Penicillienformen (B, C). Sie sind morphologisch nahe verwandt, in den Kulturen verhielten sie sich jedoch voneinander ein wenig verschieden. Die eine Form wuchs nämlich auf demselben Medium langsamer als die andere, diese schied in die Flüssigkeit einen schwach gelbgrünen Farbstoff aus usw., so daß sie unter selbständigen Namen geführt werden dürfen (B, C). Auch in anderen Fällen waren auf dem Agar echte Mykorrhizapilze ausgesproßt und konnten isoliert werden. Es schienen jedoch dem Verfasser die Resultate der übrigen Isolierungsversuche nicht sicher genug und eindeutig zu sein, so daß er sich mit jenen zwei Fällen begnügte, die nicht den geringsten Zweifel zulassen, sowie auch mit der mit großer Wahrscheinlichkeit erfolgten Isolierung A.

Andererseits muß zugestanden werden, daß das Hauptinteresse des Verfassers darauf vereinigt wurde, ob nicht gerade die Gattung Penicillium bei der Bildung der Mykorrhizen nachgewiesen werden könnte. Es zeichnet sich nämlich diese Gattung durch die ausgeprägte Fähigkeit aus, eine Menge organischer Säuren produzieren und dieselben in den Nährmedien auch ertragen zu können. Und gerade in dem Rohhumus findet man einen Überschuß von Stoffen, die stark „sauer" sind, die sog. Humussäuren[1]). Folglich dürfte es wohl gerade diese Gruppe von Pilzen sein, deren Wachstum in dem Rohhumus kaum beeinträchtigt wird. In der Tat hat der Verfasser auch von den Rohhumusmykorrhizen eines und desselben Buchenwaldes nicht weniger als vier verschiedene Penicillienarten als Mykorrhizenbildner isoliert. Andererseits gelten allerdings Penicillien als die gewöhnlichsten Verunreinigungspilze. So wird es vielleicht nicht wundernehmen, wenn dem Verfasser die einwandfreie, über alle Zweifel erhabene Isolierung in bloß zwei Fällen, wobei insbesondere jede Verunreinigung mit den üblichen Luft- und Humuspenicillien ausgeschlossen werden mußte, fast dreiviertel Jahr in Anspruch genommen hat. Bei diesem Sachverhalt war auch kaum daran zu denken, über die „geographische" Verteilung der Mykorrhizapilze der Fichte nähere Untersuchungen auszuführen. Es wurde folglich nur noch der Versuch gemacht, die Pilze von weißen, flockigen Mykorrhizen, die von mir im Sande gefunden worden sind, reinzuzüchten. Leider waren die Mykorrhizen, wie dies die flockige Beschaffenheit

[1]) Ob diese Stoffe von kolloidartiger Natur (Baumann, Gully) sind oder ob zwischen ihnen einige echte Säuren vorkommen (H. Niklas, Sind in den Humusstoffen Humussäuren oder Kolloide vorhanden? Naturwissenschaftl. Zeitschr. f. Forst- u. Landwirtschaft, X. Jahrg., 1912, S. 389; Sven Odén, Über die Natur der Humussäure. Arkiv för Kemi, Mineralogi och Geologi, Bd. VI, 1912, Nr. 26), ist von diesem Standpunkt aus wohl ziemlich gleichgültig.

ihrer Oberfläche und die nur geringe Ausbildung eines Mantels verriet, noch ganz jung. Die Möglichkeit eines Mißerfolges war also naheliegend, und die Isolierung gelang in der Tat nicht. Von ähnlichem Mißgeschick wurde auch J. Fuchs getroffen, als er — seiner Schilderung nach — ebenfalls mit jungen Fichtenmykorrhizen bei seinen Isolierungsversuchen gearbeitet hat (S. 24). (Von mir wurden in früheren Versuchen absichtlich Sklerotien-Mykorrhizen als Isolierungsmaterial gewählt.) Als Nährmedium wurde diesmal ein kalter und ein Autoklavauszug aus dem Moldausande angewendet, als Impfmaterial ein geringes Stückchen von dem Fadengeflecht, welches von der Nähe des Vegetationspunktes einer Mykorrhize unter dem Präpariermikroskop genommen und rasch von dem sterilen Objektträger auf die Agarplatte übertragen wurde. Mit Bestimmtheit wurde jedoch nach einer gewissen Zeit bloß das Auskeimen von mehreren weißen Hyphen konstatiert, die, mit kleinen Wärzchen und mit Schnallen versehen, eben die Mykorrhizen bildeten. Leider wurden sie in ihrer weiteren Entwicklung bald von Bakterien überwuchert. Außerdem erschienen in einigen von diesen Kulturen Myzelien, welche direkt bei ihrem Auskeimen aus einigen Sporen, die zwischen den Mykorrhizenhyphen sich befanden, verfolgt werden konnten. Zum Schluß wurden auf jeder Platte mehrere Pilzarten, welche insgesamt weiß waren, gefunden. Sicher war indessen in diesen Fällen bloß das, daß zwischen ihnen keine Penicillien vorhanden waren, nicht unmöglich, daß mehrere Pilze an der Bildung einer und derselben Mykorrhize sich beteiligten, und nicht ausgeschlossen, daß zu diesen Pilzen gewisse Erdmucorineen, deren Myzel unter Umständen oft mit Querwänden versehen zu sein pflegt, gehören könnten[1]).

Selbstverständlich wurden mit den von den Fichtenmykorrhizen isolierten Schimmelpilzen auch junge Fichtenpflanzen infiziert. Diese

---

[1]) Von den Literaturangaben, die die Beteiligung verschiedener Agaricineen an der Bildung der Mykorrhizen von Nadelbäumen betreffen, scheint dem Verfasser die Arbeit von Kaufmann (1906, Cortinarius as a mycorrhiza-producing fungus. Botanical Gazette XLII, S. 208; vergl. Peklo, 1910, II, S. 34) am beweiskräftigsten. Der letztgenannte Autor hat gefunden, daß Cortinarius rubipes aus dem Fuße des Fruchtkörpers rote Myzelialstreifen aussendet, welche mit Würzelchen von der Roteiche, von Acer und Celastrus scandens derartige Verbindungen eingehen, daß sie mit ihnen tatsächliche, rot verfärbte ektotrophe Mykorrhizen bilden. Ferner hat unlängst Kusano (Gastrodia elata and its symbiotic Association with Armillaria mellea. Tokyo 1911) gefunden, daß Agaricus melleus epiphytische und endophytische Mykorrhizen bilden kann; die Phanerogame war allerdings in diesem Falle die Orchidee Gastrodia elata. Demgegenüber kann — gegen alle Erwartung — kaum als vollständig gelungen die Beweisführung von J. Fuchs (1911 a. a. O.) angesehen werden, welch letztgenannter Autor

wurden vor der Infektion sterilisiert, nachher in sterilisierten Moldausand eingepflanzt. Die Resultate der Infektion werden an anderen Orten geschildert werden.

Dagegen sei hier an die weiteren Infektionen erinnert, welche der Verfasser mit jungen Buchenpflanzen und mit den von den Buchenmykorrhizen isolierten Penicillien ausgeführt hat (vergl. Peklo 1909, S. 244; in extenso 1910, II., S. 73—81). Außer den mit Erfolg ausgeführten Infektionen mit zwei Penicillien (1909), wurde 1909 noch ein dreijähriger, vorher nicht sterilisierter Fagus mit dem dritten, ebenso zu den Mykorrhizabildnern zugehörigen Penicillium infiziert. Vor der Infektion wurde sein Wurzelsystem mit der Lupe genau durchmustert, einzelne verdächtige Würzelchen außerdem mit dem Mikroskop untersucht, jede Spur von den Mykorrhizen jedoch vermißt. Dasselbe wurde auch nach drei Monaten konstatiert, als das Exemplar ganz aus dem sterilisierten Humus ausgehoben und einer wiederholten Untersuchung unterworfen wurde. Die Infektion gelang in diesen Falle wahrscheinlich deshalb nicht, weil das zur Impfung benutzte Myzelium (es wurde vorher auf salpeter- und weinsaurem Ammon und Tannin kultiviert) zu schwach war und nur wenige Sporen ausgebildet hatte. Gleichzeitig wurde aber durch dieselbe Kultur gezeigt, daß es im sterilisierten Humus gar nicht zur Bildung von Mykorrhizen zu kommen braucht, welche durch die Pilzkeime veranlaßt worden wären, die man mit den nichtsterilisierten Pflanzen in das benutzte Medium mitüberträgt. 1911 wurden in sterilisierten Moldausand drei einjährige, nichtsterilisierte Buchenpflanzen übertragen. Die Samen, aus welchen sie hervorgegangen sind, wurden im unsterilisierten Sande zur Auskeimung gebracht und

---

sich bemüht hat, synthetisch epiphytische Mykorrhizen aus den Reinkulturen von verschiedenen Waldagaricineen und den rein gezüchteten, jungen Fichtenpflanzen darzustellen.

Daß aber bloß Agaricineen resp. Basidiomyceten imstande wären, die symbiotischen Beziehungen mit den Waldbäumen einzugehen, wie dies ununterbrochen von den Autoren behauptet wird, scheint dem Verfasser gar nicht berechtigt zu sein. Wenn auch sehr häufig schnallenbildende Hyphen an der Oberfläche der epiphytischen Mykorrhizen vorgefunden werden, was eben die Autoren meistens veranlaßt, die betreffenden Pilze als Basidiomyceten zu bestimmen, so ist demgegenüber zu betonen, daß nach Mattirolo (Vuillemin, Les bases actuelles de la systématique en mycologie. Progressus rei botanicae 1907, II, S. 49) auch Tuberineae imstande sind, Schnallen zu bilden, und daß Penicillium (Perisporiaceae) mit dieser Pilzabteilung verwandt ist. Andererseits wurde von mir beobachtet, daß Myzelien von ganz verschiedenen Schimmelpilzen, welche zu den Basidiomyceten nicht gehörten, durch bestimmte Kultureingriffe zur Bildung von Gebilden sich veranlassen ließen, welche den Schnallen der Basidiomyceten schon sehr ähnlich waren.

daselbst weiter kultiviert. Bei der mikroskopischen Kontrolle, welche vor der Infektion ausgeführt wurde, ergab sich, daß einige von ihren Würzelchen von einem schwarzbraunen Pilz befallen waren, welcher an ihrer Oberfläche ein lockeres Fadengeflecht, aus dicken, schwarzen Hyphen bestehend, bildete. Der Vegetationskegel der Würzelchen war jedoch meistens nicht von dem Pilze umsponnen, wie überhaupt die genannten Gebilde keine typischen Mykorrhizen vorstellten. Auch waren sie leicht schon mit der Lupe zu erkennen. Zwei Buchenpflanzen wurden mit einer aus Buchenmykorrhizen isolierten Penicilliumart infiziert in der Weise, daß in dem sterilisierten Impfkasten in eine in dem sterilen Sande gemachte Aushöhlung Myzelflöckchen mit zahlreichen Sporen übertragen wurden, worauf das Wurzelsystem der Pflanze zu liegen kam. Das Myzelium, welches zur Infektion angewendet wurde, zeichnete sich, wie es bei dieser Art üblich ist, in der Kultur durch eine blaue Farbe aus, auch die ziemlich großen und charakteristisch epinösen Sporen waren bläulich. Innerhalb drei Monate starb ein infiziertes Exemplar ab. Das andere wurde nach dieser Zeit untersucht und zeigte folgende Verhältnisse:

Die „schwarze" Infektion wie vorher, nicht vermehrt. Außerdem zahlreiche weißlich-bläuliche Mykorrhizen, welche schon mit dem unbewaffneten Auge sichtbar waren und auch mit der Lupe leicht von den schwarzen Würzelchen sich unterscheiden ließen. Sie wurden gerade an den Stellen gebildet, wo vorher die Myzelflöckchen sich befanden. Die mikroskopische Untersuchung ergab, daß sie in dem Penicilliummyzelium ihren Ursprung gefunden haben. Ihr Pilzmantel wurde nämlich teils von den bläulichen Hyphen des Infektionsmyzels gebildet, teils befanden sich in demselben unzählige, blaue, epinöse Sporen, welche nicht einmal nach wiederholtem Auswaschen des Wurzelsystems sich von den Mykorrhizen trennen ließen, weil sie noch den Konidienträgern anhafteten, die andererseits mit den Fäden, die den Mykorrhizenmantel bildeten, in Verbindung standen. Diese, zweifellos von dem Penicillium verursachten Mykorrhizen wurden nun öfters an ihrer Oberfläche von den schwarzen, dicken Fäden umsponnen, wie mit einem Draht überzogen, vorgefunden. Außerdem wurden auch solche Fälle konstatiert, wo das Penicilliummyzelium unter dem schwarzen Pilzbelag sich eingenistet hat und diesen von der Oberfläche des Würzelchens abgehoben hat. Es entstand so ein Konkurrenzkampf zwischen den beiden Pilzarten, aus welchem das Penicillium siegreich hervorgegangen ist und eine Mykorrhize gebildet hat. Daß der Beweis von der Zugehörigkeit der Penicilliumarten, welche der Autor 1909 von den Buchen-

mykorrhizen isoliert hat, zu diesen symbiotischen Gebilden „nicht im mindesten erbracht“ wäre, wie J. Fuchs (a. a. O. S. 3) meint, vermag ich daher nicht anzuerkennen.

C. Über die Assimilation des Luftstickstoffs durch die Mykorrhizenpilze.

Die Auffindung der physiologischen Eigenschaften der Fichtenmykorrhizen und ihrer Bedeutung für die Biologie der Fichtenwälder wurde dem Verfasser wesentlich erleichtert durch die Arbeiten, welche auf diesem Gebiet schon P. E. Müller ausgeführt hat. Bekanntlich ist es der Aufmerksamkeit dieses Forschers nicht entgangen, daß das Wurzelsystem von Pinus montana, welche auf außerordentlich nährstoff- und insbesondere stickstoffarmen Heiden Jütlands gut gedeiht, eine große Menge Mykorrhizen zu bilden pflegt. Zum großen Teil sind diese Mykorrhizen von ganz eigenartigem Habitus, indem sie reichlich gabelförmig verzweigt sind und viel Ähnlichkeit mit den Wurzelknöllchen der Leguminosen aufweisen. Das hat P. E. Müller zur Äußerung der Meinung veranlaßt, daß nur durch diese Gebilde der Bergkiefer das Wachstum auf einem so armen Boden ermöglicht wird; die Mykorrhizen von Pinus montana, welche den epiphytischen Charakter tragen, seien imstande, den elementaren Stickstoff zu assimilieren. Als einen Beleg für die Richtigkeit dieser Meinung führt P. E. Müller an das merkwürdige Verhalten der Fichte, wenn sie in Gemeinschaft mit der Bergkiefer angepflanzt wird. Reine Fichtenbestände gedeihen nämlich auf dem alten Heideboden im SW. Jütlands sehr schlecht, sie stellen bald ihr Wachstum ein, ihre Gipfel werden gelb, indem nach Müller die Stickstoffverbindungen, welche in dem Boden nach der Heide übrig bleiben, für die jungen Fichtenpflanzen unverdaulich sind[1]). Wenn dagegen die Fichte zusammen mit der Bergkiefer kultiviert wird, dann gedeiht sie vortrefflich. Dasselbe zeigt sich aber auch, wenn zwischen die Fichten Leguminosen eingesät werden. Dann können sogar gewisse Monstrositäten an Fichten beobachtet werden, welche den Fasziationen ähnlich sind, die an jungen Buchenpflanzen durch Überschuß von Salpetersäure hervorgerufen werden[2]) (Müller, 1910, S. 218 ff.). Der Kausalnexus wird allerdings in dem letzten Falle nicht ganz einfach sein, denn die Fichte

[1]) P. E. Müller, Über das Verhältnis der Bergkiefer zur Fichte in den jütländischen Heidekulturen. Nat. Zeitschrift für Land- und Forstwirtschaft 1903, S. 37.

[2]) P. E. Müller, E. Rordam, Johs. Helms, E. H. Woldike, Bidrag til kundskap om roedgranens vaekstforhold i midtjydsk hedebund (Soertryk af det forstlige Forsogsvoesen i Danmark, III, 1910), S. 270.

gedeiht auch gut auf Örtlichkeiten mit einem alten Mulluntergrund, welcher nach den alten Laubwäldern übrig bleibt. Und in diesem Mull wurde auch eine reiche Flora von Schimmelpilzen und Bakterien (dazwischen auch Radiobakter) vorgefunden, welche — einigen Anzeichen nach — imstande sind, den freien Stickstoff zu assimilieren (P. E. Müller, 1910, a. a. O.). Jedenfalls ist diesen Beobachtungen die Tatsache zu entnehmen, daß die mykorrhizenreiche Bergkiefer in Fichtenkulturen auf dieselbe Weise einwirkt, wie die Leguminosen, welche den Boden reichlich mit Stickstoff zu versorgen vermögen. Der Gedanke ist also naheliegend, daß auch die ektotrophen Mykorrhizen von Pinus montana die Befähigung zur Assimilation des Luftstickstoffs besitzen. Daß die Fichte, trotz ihrer Mykorrhizen, auf dem jütlandischen Sande nicht gedeiht, ist leicht erklärlich, ist doch dieser Waldbaum überhaupt ein Humus und Feuchte liebendes Gewächs[1]) (Ramann, 1911, S. 406), die Bedeutung der Bergkiefer in den Mischkulturen dürfte nach Wahlgren[2]) eben auf der Herbeiführung von Humus von der erforderlichen Qualität (im weitesten Sinne des Wortes) beruhen.

Gegen die Auffassung von P. E. Müller wendet sich Möller[3]) (1909, S. 230). Er hat einjährige Pflanzen von der Bergkiefer in Töpfe mit ausgewaschenem Sand und Kalziumphosphat eingepflanzt. Ein Teil von den Töpfen wurde von Zeit zu Zeit mit einer Lösung von 1,25 g KCl + 2,5 g $MgSO_4$ in 100 Liter dest. Wasser begossen, der andere außerdem mit 0,02 % $NaNo_3$-Lösung. Die Pflanzen besaßen bei dem Einpflanzen viele Mykorrhizen. Nach einer Zeit blieben die Exemplare, welche nicht mit Chilisalpeter begossen wurden, in dem Wachstum gegenüber den anderen zurück. Nach sechs Monaten wurden alle Pflanzen auf Stickstoff analysiert. In jedem Exemplar (als Durchschnitt von je sieben) wurde nun gefunden:

bei den einjährigen Pflanzen vor dem Versuche	0,0108 g N	D = 0,0011 g
bei den zweijährigen Pflanzen, die ohne N kultiviert wurden, nach dem Versuche .	0,0119 „ „	
bei den zweijährigen Pflanzen, die mit N kultiviert wurden, nach dem Versuche .	0,0295 „ „.	

[1]) Ramann, Bodenkunde, III. Auflage.

[2]) A. Wahlgren, Hvilka erfarenheter hafva hittils vunnits beträffande främmande trädslags införande i våra skogsmarker? Kungl. Landtbruks-Akademiens Handlingar och Tidskrift. År 1912, S. 51.

[3]) A. Möller, Mykorrhizen und Stickstoffernährung. Berichte der deutschen botan. Gesellsch. 1906, Jahrg. 24, S. 230 ff.

Die Differenz von 1,1 mg bei der ersten Serie deutet Möller als einen analytischen Fehler. Die Mykorrhizen von Pinus wären demnach unfähig, den elementaren Stickstoff zu assimilieren. Nach der Meinung des Verfassers wäre jedoch diese Schlußfolgerung nur dann richtig — von der kurzen Zeit des Versuches abgesehen —, wenn von Möller nachgewiesen worden wäre, daß, obwohl keine Stickstoffzunahme stattfindet, die Würzelchen kräftig wachsen und viele neue Mykorrhizen bilden. Dann wären jedenfalls die Mykorrhizen für die N-Besorgung der höheren Pflanze nutzlos. Denn es ist höchstwahrscheinlich — und eben die im Vorhergehenden von dem Verfasser mitgeteilten cytologischen Tatsachen sprechen dafür —, daß nur, soweit die Mykorrhizen wachsen und in ihren meristematischen Teilen und Endod. wieder den Pilz zum Auswachsen und zur Verdauung bringen, sie der höheren Pflanze von einigem Nutzen sein können. Diese Kontrolle wurde jedoch von Möller nicht ausgeführt. Dem Möllerschen Versuch stellt P. E. Müller (1910, S. 221) den seinigen entgegen. Auf einem sehr armen sandigen Substrate wurden Bergkiefern angepflanzt und zum Teil mit $NaNO_3$-haltigem Wasser begossen, zum Teil ohne jede Düngung kultiviert. Nach sechs Jahren war auf den Parzellen:

	mit Chilisalpeter	ohne Chilisalpeter
die Anzahl der Pflanzen . . .	579	377
das Gewicht von je 50 Pflanzen	27,3 kg	33,2 kg.

Also nicht nur wuchsen die Kiefern ohne jede besondere Stickstoffdüngung ganz gut und sahen vollkommen gesund aus, sondern sie erreichten auch ein größeres Gewicht als diejenigen Individuen, welche mit Chilisalpeter gedüngt wurden. Ein Resultat, welches dem Möllerschen Versuche direkt entgegengesetzt war.

Bei diesem Sachverhalt schien es dem Verfasser notwendig zu sein, die Mykorrhizapilze der Fichte, als sie ihm in Reinkulturen vorlagen, auf die Befähigung zur Stickstoffassimilation zu prüfen.

Daß die Schimmelpilze den freien, elementaren Stickstoff zu assimilieren imstande sind, wurde in neuerer Zeit unzweifelhaft festgestellt und dadurch wurden gleichzeitig einige ältere Angaben, welche die Frage im negativen Sinne zu beantworten versuchten, korrigiert. Zuerst hat Ch. Ternetz[1]) (1907) aus Wurzeln von verschiedenen Ericaceen (Oxycoccus palustris, Andromeda polifolia, Vaccinium Vitis

[1]) Charl. Ternetz, Über die Assimilation des atmosphärischen Stickstoffes durch Pilze. Jahrbücher f. wiss. Bot. 1907, Bd. 44, S. 353.

Idaea, Erica tetralix und Erica carnea) einige, zur Gattung Phoma zugehörige Pyknidenpilze isoliert und diese Pilze haben, in speziellen Kulturen darauf geprüft, die Fähigkeit erwiesen, den freien Stickstoff zu assimilieren. Und zwar geschah dies unter Kautelen, bei denen auch die Absorption des Luftammoniaks vollständig ausgeschlossen war, die Mengen des assimilierten Stickstoffs, welche die Autorin angibt, sind beträchtlich (in 100 ccm einer Nährlösung, welche sehr stickstoffarm war, während 4 Wochen 2,3—15,3 mg, pro 1 g verarbeiteter Dextrose 2,17—18,08 mg), so daß kein Zweifel darüber bestehen kann, daß der molekulare Stickstoff von den Pilzen in der Tat assimiliert wurde. Die Pilze wurden von Pflanzen isoliert, welche teils in Mooren, teils in dem Baseler botanischen Garten vegetierten.

Die Anzahl der Spezies, welche mit dieser Fähigkeit ausgerüstet sind, wurde von Fröhlich[1]) (1908) um Alternaria tenuis, Macrosporium commune, Hormodendron Cladosporioides und Cladosporium herbarum vermehrt. Die Pilze wurden auf verschiedenen vertrockneten Pflanzenresten (hauptsächlich auf Stengeln) in der Umgebung von Basel gefunden. Die Stickstoffzunahme war im Durchschnitt bei jeder Spezies:

Macrosporium 3,7 mg, Alternaria 3,34 mg, Cladosporium 2,26 mg, Hormodendron 1,93 mg.

Über die Assimilation des elementaren Stickstoffs durch Hefen, Monilia candida und Oidium lactis vgl. Kossowicz[2]).

Für die Kultur seiner Schimmelpilze hat nun der Verfasser (für die Spezies A und B) Medium I nach Winogradski (Fröhlich), teilweise modifiziert, gewählt: 1 Liter Wasser aus der Prager Wasserleitung, 1 g KH_2PO_4, 0,2 g $MgSO_4$, Spuren von $FeSO_4$, 1,8 % Dextrose; für die Spezies C Medium II nach Winogradski mit einer Spur Zitronensäure und 4 % Dextrose. A und C wuchsen in diesen Nährlösungen ganz gut, B (Penicillium) ein wenig schwächer. A hat ziemlich dicke Decken sowohl an der Oberfläche der Flüssigkeit als auch am Boden des Gefäßes gebildet, die Pilzmasse war von einer dunkelgrauen Farbe. C hat eine reichliche Decke auf dem Boden des Gefäßes gebildet, an der Oberfläche dann zahlreiche Fruktifikationen. Beide Pilze wurden in 80 ccm Nährlösung kultiviert in Erlenmayerkolben mit 500 ccm Inhalt; B wurde in Gefäßen von 300 ccm in 100 ccm Nährlösung kultiviert. Behufs Vergleichung der Wachstumsintensität wurden außerdem B und C

[1]) H. Fröhlich, Stickstoffbindung durch einige auf abgestorbenen Pflanzen häufige Hyphomyzeten. Jahrb. f. wiss. Bot., 1908, Bd. 45, S. 256.

[2]) Al. Kossowicz, Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. 1, 1912, S. 252.

auf Dekokt aus Fichtenhumus übergeimpft, zu welchem 0,15 % KH_2PO_4 und 4 % Dextrose zugesetzt wurden.

Zuerst sollen einige Daten vorgeführt werden, um zu demonstrieren, mit welcher Intensität einzelne Schimmelpilze in ihren Lösungen gewachsen sind (Trockensubstanzbestimmung, Stickstoffgehalt in der Trockensubstanz). Doch muß vorausgeschickt werden, mit welchen Kautelen die Stickstoffanalysen nach Kjeldahl ausgeführt wurden.

Die Flüssigkeiten wurden wie üblich geimpft. In jeder Serie wurden 1—2 geimpfte Kulturen nochmals sterilisiert und als Parallelkulturen aufbewahrt: die Stickstoffmenge, welche in ihnen festgestellt wurde, wurde abgerechnet von dem in dem Myzelium und in seiner Nährlösung gefundenen Stickstoff. Die Nährlösung nach Winogradski, mit Moldauwasser und bis 4-prozentiger Dextrose hergestellt und vor dem definitiven Gebrauch durch mehrmaliges Sterilisieren ein wenig konzentrierter gemacht, enthielt allerdings eine gewisse Menge stickstoffhaltiger Verbindungen, welche bei den Analysen respektiert werden mußten, so daß dieses Medium für eine Lösung gehalten werden muß, welche bloß stickstoffarm, also keineswegs ganz stickstofffrei war. Die Kulturflüssigkeit wurde von dem Myzelium abgesaugt, das Myzel mit heißem Wasser ausgewaschen und bis zu einem konstanten Gewicht bei 100° C getrocknet. Das verdünnte Filtrat wurde eingeengt, mit 1 g ch. r. $CuSO_4$ + 7 g K_2SO_4 als Katalysatoren versetzt und mit 20—25 ccm ch. r. konzentrierter H_2SO_4 als ein Ganzes, unfraktioniert verbrannt. Dasselbe geschah mit dem Myzelium und mit der Parallelkultur. Nach dem Auskühlen wurde das Ammoniak mit Hilfe von NaOH aus einem Kupfergefäß, in welches ein Stück Zink eingeworfen wurde, überdestilliert. Die Vorlage enthielt 30 ccm $^n/_{10}$ H_2SO_4. Die Rücktitrierung erfolgte mit $^n/_{10}$ NaOH auf Alizarin. Auch so wurde vorgegangen, daß das Myzelium mit der Nährlösung zusammen verbrannt und davon die Parallelkultur abgerechnet wurde. Bei jeder Probe wurde also jedesmal bei der Bestimmung des Stickstoffs in dem Myzelium, in der Nährlösung und in der Parallelkultur auch diejenige Menge Stickstoffs in Abrechnung gebracht, die in der Schwefelsäure und in den Reagentien enthalten war. Die Titrierflüssigkeiten wurden während der Ausführung der Analyse mehrmals in Übereinstimmung gebracht. Die für die Analysen vorbereiteten Medien, die geimpften Gefäße sowie die Parallelkulturen wurden in einem gut geschlossenen Schrank aufbewahrt in einem Zimmer, wo chemisch überhaupt nicht gearbeitet wird. Übrigens wurde durch Ternetz und Fröhlich in den Arbeiten, welche schon zitiert wurden, festgestellt, daß Penicillien auch in einem Raum, welcher vollständig

ammoniakfrei gemacht wurde, mit der Zeit eine Stickstoffzunahme aufweisen, daß sie also in der Tat imstande sind, den molekularen Stickstoff zu assimilieren. Auch eine Arbeit von Stahel, welche, als die Untersuchungen des Referenten schon im Laufe waren, erschienen ist, und über welche unten ein genaueres Referat noch gegeben wird, hat einige der strittigen Punkte, welche in dieser Frage noch vorhanden waren, aufgeklärt.

Das destillierte Wasser wurde vor dem Gebrauch durch Auskochen ammoniakfrei gemacht.

1. Pilz A, aus Mykorrhizen isoliert, auf Winogradskischer Lösung (80 ccm) + 1,8 % Dextrose einen Monat kultiviert:

Trockensubstanz . . . . = 66,8 mg
Stickstoff in dem Myzelium = 0,9126 mg = 1,36 %.

2. Penicillium B aus Mykorrhizen, Winogradskische Lösung + 1,8 % Dextrose; 100 ccm Nährlösung in einem kleinen Erlenmayerkolben. Kulturdauer 1 Monat. Myzelium befindet sich am Boden des Gefäßes, wo viele Perithecien vorhanden sind, diese enthalten jedoch keine Asken.

Trockensubstanz . . . . = 15,7 mg
Stickstoff in dem Myzelium = 0,4212 mg = 2,68 %.

3. Penicillium B, 1 Monat auf 80 ccm Humusdekokt + 4 % Dextrose kultiviert.

Trockensubstanz . . . . = 61,2 mg
Stickstoff in dem Myzelium = 1,4742 mg = 2,4 %.

4. Penicillium C, drei Wochen auf 80 ccm Humusdekokt + Dextrose gezüchtet. Ein Halblitergefäß.

Trockensubstanz . . . . = 67,92 mg
Stickstoff in dem Myzelium = 2,3106 mg = 3,41 %.

Die folgenden Zahlen bringen wohl den Beweis dafür, daß die Assimilation des mol. Stickstoffs in den Kulturen stattgefunden hat. Die Dauer der Versuche betrug 1—2 Monate.

1. Penicillium B, kultiviert in 100 ccm Winogradskischer Nährlösung + 1,8 % Dextrose, ein kleiner Erlenmayerkolben, Myzelium am Boden des Gefäßes.

Trockensubstanz	16,7 mg
Myzelium + Nährlösung enthält Stickstoff . .	2,2256 mg
Die Kontrollnährlösung enthielt nach dem Abschluß des Versuches	1,0934 „
Stickstoff-Zunahme	1,1322 mg

2. Pilz A, kultiviert in 80 ccm Winogradskischer Nährlösung + 1,8 % Dextrose in einem ½ Liter fassenden Erlenmayerkolben.

Trockensubstanz	76 mg
Myzelium + Nährlösung enthält . .	1,8124 mg Stickstoff
Kontrollflüssigkeit (80 ccm)	1,1232 „ „
Zunahme	0,6892 mg Stickstoff.

Auf eine Kultur mit 100 ccm Nährlösung umgerechnet macht dies 0,8575 mg assimilierten Stickstoff.

3. Penicillium C, kultiviert in 80 ccm Winogradskischer Nährlösung + 4 % Dextrose in einem Halblitergefäß.

Trockensubstanz . . . . . . 44,4 mg.

Bei dem Vergleich des Nährmediums von dem Myzelium mit der Kontrollflüssigkeit hat es sich gezeigt, daß das Myzelium, obwohl der Luftstickstoff assimiliert wurde, aus seinem Nährmedium 0,54 mg Stickstoff herausgenommen hat. Denn

das Myzelium enthält Stickstoff	1,6736 mg
seine Nährlösung nach dem Abschluß des Versuches	0,4212 „ Stickstoff
Zusammen	2,0948 mg Stickstoff.
Die Kontrollflüssigkeit (80 ccm) enthielt . . .	0,9684 „ „
Die Stickstoffzunahme pro 80 ccm beträgt also .	1,1264 „ „
Die Zunahme pro 100 ccm	1,408 mg Stickstoff.

3. Penicillium C, in 80 ccm Winogradskischer Nährlösung + 4 % Dextrose, ein ½ Liter fassender Erlenmayerkolben.

Trockensubstanz	37 mg
Myzelium + Nährlösung enthält	2,7886 mg Stickstoff
Die Kontrollflüssigkeit (80 ccm) nach dem Versuche	1,2994 „ „
Die Stickstoffzunahme pro 80 ccm macht also .	1,4892 „ „
Die Stickstoff-Zunahme pro 100 ccm beträgt	1,8615 mg.

Der Unterschied in dem Stickstoffgehalt bei der parallelen Kontrollflüssigkeit gegenüber der Nummer 3 dürfte darin seine Erklärung finden, daß in dem letztgenannten Falle das Nährmedium für den Versuch neu hergestellt wurde.

Es hat sich also in allen Kulturen die Assimilation des Luftstickstoffs gezeigt. Allerdings sind die Zahlen, welche erreicht wurden, nicht groß. Nichtsdestoweniger muß in Betracht gezogen werden, ob nicht bei der Wahl eines passenden Mediums für die Pilze A und B ein Fehler begangen worden ist. Die Assimilation wächst — den Angaben von Ternetz und Fröhlich nach — mit der Konzentration der der Nähr-

lösung zugesetzten Dextrose, und in dieser Hinsicht war sicher die Nährflüssigkeit nach Winogradski mit 1,8 % Dextrose kein reichhaltiges Medium. In der Tat ist nach der Zugabe von 4 % Dextrose schon eine beträchtlichere Zunahme zustande gekommen. Weiter wurde zu den Kulturen von Penicillien kein Karbonat zugesetzt, was eine regulative Exhalierung von Ammoniak behufs der Neutralisation der produzierten organischen Säuren und dadurch eine Störung der normalen Entwicklung der Myzelien herbeiführen konnte. Auch wurden zu den Kulturen keine Humate hinzugefügt, welche, wie bekannt, die Assimilation des freien Stickstoffs durch Azotobacter sehr fördern, und alle isolierten Schimmelpilze waren doch ausgeprägte Humusorganismen. So stellen diese Umstände erst die weitere Aufgabe, für die isolierten Schimmelpilze passendere Medien ausfindig zu machen. Übrigens stehen die Zahlen, welche für die Spezies C festgestellt worden sind, den Befunden Fröhlichs bei Cladosporium und Hormodendron (die Zunahme von 2,26 resp. 1,93 mg) schon ziemlich nahe und die Zahlen von Löhnis[1] (1905, S. 594) für die Assimilation von Luftstickstoff durch Bacillus radicicola in 100 ccm Bodenextrakt + 0,05 % K_2HPO_4 + 1 % Dextrose nach 3 Wochen (in Erlenmayerkolben auf ein halbes Liter) sind:

Radicicola aus dem Klee zeigte Stickstoffzunahme von	0,70,	0,84,	1,54 mg
„ aus der Wicke „ „ „	0,14,	0,42,	1,54 „
Azotobacter	1,	0,	1,68 mg.

Und doch wurde durch die neuen Versuche mit Radicicola erwiesen, daß die Bakterie, wenn im Sande kultiviert, viel mehr Stickstoff zu assimilieren imstande ist. Weiter muß in Erwägung gezogen werden, ob wenigstens einige von den Zahlen, welche über die Assimilation der Schimmelpilze bis jetzt vorliegen (Ternetz), nicht ein wenig zu hoch ausgefallen sind. Denn einer solchen Gefahr ist man sehr ausgesetzt, wie sich davon auch der Verfasser überzeugt hat, wenn man die Bestimmung des Stickstoffs nur in einem kleinen Teil des Filtrats vornimmt. Bei einigen Zahlen von Fröhlich ergibt sich die Frage, ob nicht in den Kontrollmedien in der Wirklichkeit eine größere Menge Stickstoff enthalten war als angegeben wird.

Nichtsdestoweniger muß erwogen werden, ob nicht auch kleine absolute Stickstoffgewinne für die Verhältnisse, unter welchen die Fichtenmykorrhizen vegetieren, von Bedeutung sind. Die enormen

[1]) F. Löhnis, Beiträge zur Kenntnis der Stickstoffbakterien. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 1905, Bd. 14, S. 582 ff.

Massen von Mykorrhizen, wie sie in dem Humus der böhmischen Fichtenwälder vorgefunden wurden, als ein Ganzes müssen beträchtliche Mengen Stickstoffs den Beständen beibringen, welche Bestände überdies nur durch ein langsames Wachstum und einen ziemlich geringen Fruchtansatz, also durch einen nur ganz allmählichen Verbrauch sich auszeichnen. Damit in Übereinstimmung dürfte sich wohl auch die Erscheinung bringen lassen, daß wir ziemlich oft in der Natur bei den Fichten eine gewisse Mykorrhizenbildung antreffen, welche als „labil" bezeichnet werden kann: die Pilzfäden umflechten bloß in einer geringen Menge die Würzelchen, es werden keine stattlicheren Mäntel ausgebildet, die Mykorrhizen sterben bald ab — kurz und gut, es treten in der Tat gewisse Übergänge zutage von dem Vegetieren der Pilze außerhalb der Wurzel, „ohne konjunkte Symbiose" im Humus nach der Auffassung Pfeffers[1]) und einer mehr oder weniger extramykorrhizellen Einwirkung der Schimmelpilze bis zu den streng symbiotischen Wechselbeziehungen. Deshalb wäre es nur begreiflich, wenn die Stickstoffmengen, welche von einzelnen Mykorrhizaorganen geliefert werden, nicht allzu beträchtlich wären und denjenigen der Leguminosenknöllchen nicht entsprächen. Denn für das Ganze, wie schon gesagt, und für die natürlichen Bedingungen, unter welchen die Fichten zu vegetieren genötigt sind, kann der Effekt ansehnlich sein[2]). Man muß aber hierbei noch andere Tatsachen berücksichtigen.

In der Natur vegetieren die Fichtenmykorrhizen in einem Milieu, welches gewisse Mengen von gebundenem Stickstoff enthält. Diese Stickstoffverbindungen sind nun meistens für die höheren Pflanzen schwer verdaulich. Auch die Lösungen, welche zur Kultivierung der Mykorrhizapilze angewendet wurden, enthielten schon ein gewisses Quantum von gebundenem Stickstoff. In diesen Nährlösungen wurde dann eine Stickstoffzunahme festgestellt. So wird durch diese Beziehungen der Verfasser nur in der Meinung befestigt, daß etwas Ähnliches auch in der Natur geschieht. Diese Meinung erscheint ihm umso be-

---

[1]) W. Pfeffer, Pflanzenpkys. 1897, I. Bd., S. 359.

[2]) Auch geht aus den vorhergehenden Zeilen hervor, daß der praktischen Ausnützung der Symbiose (den erwähnten Fall mit der Bergkiefer ausgenommen) im Gegensatz zu derjenigen der Leguminosen, die in der neueren Zeit mit gutem Erfolge auch in die Waldkultur eingeführt werden (vgl. L. Hiltner, Bericht über die Tätigkeit der k. agrikulturbotanischen Anstalt München im Jahre 1910, in Praktische Blätter für Pflanzenbau u. Pflanzenschutz 1911, IX. Jhg. S. 57) kaum ein günstiger Boden zugrunde liegen kann. Ihre Bedeutung dürfte eher auf dem Gebiete der Pflanzengeographie, Pflanzenökologie usw. liegen.

rechtigter, als durch die Arbeit von Stahel (1911)[1], welche im Laufe seiner Untersuchungen über die Fichtenmykorrhizen erschienen ist, erwiesen wurde, daß auch die Schimmelpilze, welche sonst den Luftstickstoff nur schwach assimilieren, zu einer viel kräftigeren Assimilation sich anregen lassen, wenn man sie auf einem Substrate kultiviert, welches schon ein gewisses, wenn auch größeres Quantum von Stickstoff enthält. Die Angaben von Stahel beziehen sich auf Fröhlichs Schimmelpilze Alternaria tenuis, Macrosporium commune, Hormodendron Cladosporioides, weiter auf Bispora monilioïdes usw. Als Anfangsstickstoffquelle hat Stahel Kaliumsalpeter angewendet. Die Zahlen, welche er bei Macrosporium gefunden hat (während 44—53 Tagen in 200 ccm Winogradskischer Nährlösung mit 2% Dextrose), waren:

Anfangsstickstoff in mg	Gesamtstickstoff am Schluß des Versuches in mg	Gewinn in mg
0	0,23	0,23
0,57 = 0,002 %	1,12	0,55
0,84 = 0,003 %	1,17	0,33
1,19 = 0,004 %	2,48	1,29
4,50 = 0,016 %	9,21	4,71
4,53 = 0,016 %	10,44	5,91

Der Gewinn von 1,29 mg bei dem Anfangsstickstoff von 1,19 mg erinnert an ähnliche Resultate des Verfassers.

Durch diese Befunde nimmt aber auch die Fichtenmykorrhizenfrage eine andere Richtung. Es scheint also gar nicht durchaus unmöglich zu sein, daß auch in den Fichtenwäldern die Mykorrhizen, indem sie meistens (wenigstens in solchen Lagen, wo ein wenig Humus abgelagert wird) in solchen Milieus leben, welche schon ein gewisses Quantum von Stickstoffverbindungen, wenn auch nicht so leicht verdaulichen, enthalten, auch ähnlich größere Mengen von Luftstickstoff binden könnten, wie es Stahels Macrosporium bei den anfänglichen 4,50 mg tat. Versuche in dieser Richtung beabsichtigt übrigens der Verfasser auszuführen.

Interessante Angaben bringt diesbezüglich Stahel über Penicillium (sie betreffen eine Art, welche einen roten Farbstoff ausschied), und über Aspergillus. Bei dem Anfangsstickstoff von 0,57 mg wurde bei Penicillium resp. Aspergillus konstatiert:

[1]) G. Stahel, Stickstoffbindung durch Pilze bei gleichzeitiger Ernährung mit gebundenem Stickstoff. Jahrbücher f. wissensch. Botanik 1911, Bd. 49, S. 579f..

in dem Myzelium:	0,50 mg	resp.	0,50 mg,
in dem Filtrat:	0,57 „	„	0,48 „ N,
daher ein Gewinn von:	0,50 mg	resp.	0,41 mg N.

(Fröhlich gibt für Penicillium eine Stickstoffzunahme von 1,26 mg, Ternetz 1,89, für Aspergillus 2,8 mg an). Stahel ist der Meinung, daß Penicillium zu den Pilzen gehört, welche ein hohes Optimum von Anfangsstickstoff in der Kultur haben.

In stickstoffarmen Medien kultiviert haben also die symbiontischen Schimmelpilze der Fichte die Fähigkeit erwiesen, den freien Stickstoff zu assimilieren. Obwohl nun gewiß diese Tatsache für die Erklärung des Wesens der Symbiose nicht ohne Wichtigkeit ist, an und für sich allein braucht sie jedoch nicht alles zu bedeuten. Im Gegenteil, die Assimilation des Luftstickstoffs durch die Mykorrhizapilze könnte nur zur Festlegung dieses Elementes und zu einer weiteren Anhäufung der sowieso nicht viel nützlichen, für die höheren Pflanzen schwer „verdaulichen" Verbindungen führen, wie wir dieselben schon ohnedies im Humus reichlich vorfinden. Anders verhält es sich aber mit derselben Tatsache, wenn wir finden, daß die Mykorrhizenpilze reichlich in das Zellinnere der Fichtenwurzeln eindringen und daß sie daselbst einer weitgehenden Verdauung unterliegen. Denn dann ist es höchstwahrscheinlich, daß sich auf diese Weise die höhere Pflanze der Stickstoffsubstanz des Pilzes bemächtigt, daß entweder schon die Pilzfäden, welche den Mantel zusammensetzen, den Luftstickstoff assimilieren und ihn bei dem weiteren Eindringen in das Wurzelgewebe den Zellen „übergeben", oder daß die endophytischen Hyphen ihr Auswachsen auf Kosten des Luftstickstoffs vollführen, wonach die gewonnene Eiweißsubstanz nach dem Degenerieren des Pilzes dem Wurzelgewebe anheimfällt und von diesem bei seinem eigenen Wachstum verwertet wird. Den exakten Beweis dafür zu liefern, ist dem Verfasser noch nicht möglich. Meine diesbezüglichen Versuche, der Beweis der Stickstoffzunahme in synthetisch dargestellten Mykorrhizapflanzen, d. h. sterilisierten und mit ihren symbiotischen Schimmelpilzen infizierten Pflanzen scheiterten daran, daß junge Fichtenpflanzen im Agar durch Austrocknung bald zugrunde gingen und im sterilisierten Moldausand ohne eine besondere Nährstoffzugabe kultivierte Pflanzen nicht gut wuchsen (vielleicht u. a. darum, weil das Medium den Pilzen nicht zusagend war). Im sterilisierten Humus Kulturen von sterilen Fichtenkeimlingen anzulegen, ist ziemlich überflüssig, weil durch das Sterilisieren, Erhitzen, die unverdaulichen Stickstoffverbindungen in großem Maße in „verdauliche" übergeführt werden und das Wachstum der Fichtenpflanzen in einem solchen

Humus dann sicher auf Kosten der letztgenannten Verbindungen stattfindet. Hoffentlich wird aber dieser Beweis mit Kiefernpflanzen, welche in gewöhnlichem, nicht gedüngtem Sande gut zu gedeihen pflegen, besser gelingen.

Es erübrigt auch zu überlegen, inwieweit noch andere Möglichkeiten bei der Eruierung der Bedeutung[1]) der Fichtenmykorrhizen zu berücksichtigen wären.

Da ist zunächst die bekannte Idee von Stahl zu respektieren, nach der durch die Mykorrhizen die Nährsalzaufnahme den Wirtspflanzen ermöglicht wird. Wenn je, so sind bei vielen epiphytischen Mykorrhizen die dazu nötigen morphologischen Voraussetzungen realisiert: der Pilz erstreckt sich sowohl nach außen von der Wurzel wie nach ihrem Inneren. Von dem chemisch-physiologischen Standpunkt ist hier in der ersten Reihe an die zahllosen kolloidartigen Verbindungen zu denken, welche sich in dem Humus befinden, und aus denen die Pilze die betreffenden Nährsalzkomponenten abspalten, adsorbieren usw. dürften. Doch erlaubt sich der Verfasser über diese Frage kein Urteil, Untersuchungen in dieser Richtung hat er ja bis jetzt keine ausgeführt. Nichtsdestoweniger liegen ihm einige Beobachtungen auf einem ähnlichen Gebiete vor. Auf einem Standort mit sehr grobkörnigem Sande hat er junge Kiefernpflanzen gefunden, deren Mykorrhizen mittels feinen nach allen Seiten ausstrahlenden Hyphen so fest mit vielen Sandklumpen verbunden waren, daß das ganze System aus dem Boden ausgezogen, wie die bekannten grobkörnigen „Wurzelhöschen" aussah. Es war ersichtlich, daß die Mantelhyphen sich in die Sandkörner einfressen, und die Vermutung ist nicht abzuweisen, daß sie auf diesem Wege die spärlich im Substrate vorhandenen Mineralsalze auf irgend welche Weise zusammenzubringen versuchen.

Als eine gewisse Modifikation der Stahlschen Auffassung darf weiter folgendes gelten: Es wurde im Vorhergehenden schon gesagt, daß die Fichtenmykorrhizen sehr gerne in Rohhumusschichten auftreten. Daß sie in einem allzugroßen Maße zur Zersetzung derselben beitragen

[1]) Denn daß die Befähigung zur Assimilation des Luftstickstoffs in Verbindung mit dem Endophytismus eine Eigenschaft der Fichtenmykorrhizen ist, die schlagend für die Wichtigkeit dieser Gebilde spricht, und daß demnach trotz der entgegengesetzten Meinung von Fuchs (a. a. O. S. 23) diese Symbiose höchstwahrscheinlich der Wirtspflanze einen Nutzen bringt, braucht weiter nicht erörtert zu werden. Ist es doch eine ganz andere Eigenschaft, als z. B. die Fähigkeit zum partiellen Denitrifizieren, welche letztere Eigenschaft eventuell auch den Mykorrhizapilzen nicht abzugehen braucht und trotzdem für das Leben der betreffenden Individuen nur von untergeordneter Bedeutung sein kann!

würden, wie dies in den Mykorrhizenschichten von dem Buchenrohhumus der Fall ist, ist nicht wahrscheinlich. Nichtsdestoweniger ist es nicht unmöglich, daß die Hyphen, welche die Oberfläche des Mantels zusammensetzen, in Ermangelung einer geeigneten Kohlenhydraternährung die Zellulose der Streudecke verzuckern und konsumieren können. Und da taucht die Frage auf, ob nicht auch auf Grund der dadurch gewonnenen Energie der Luftstickstoff assimiliert wird. Denn es sind Erfahrungen der landwirtschaftlichen Bakteriologen bekannt, daß die Zellulose der nach der Ernte, Gründüngung usw. übrigbleibenden Pflanzenreste die Felder resp. Wiesen zur Anhäufung des Stickstoffs durch die Assimilation des elementaren fähiger machen kann — wenngleich auch nicht immer in einer direkten Weise, sondern durch die Vermittelung der Bakterien, die die Zellulose zu zersetzen vermögen[1]). In dem Rohhumus der Fichtenmykorrhizen dürfte dies allerdings in direkter Weise, durch die Pilze der Mykorrhizen, besorgt werden. Doch sind dies alles Vermutungen, welche den künftigen humusbakteriologischen Untersuchungen nicht vorauseilen dürfen. Diese Untersuchungen müssen auf die ganze Streudecke Rücksicht nehmen, u. a. muß zuerst festgestellt werden, ob und in welchem Maße auch durch die freilebenden Mikrorganismen, sowohl durch Schimmelpilze als durch Bakterien, die Assimilation des freien Stickstoffs im Humus zu Wege gebracht wird. Vorläufig wissen wir nur, daß Bredemann[2]) mehrmals aus dem Boden der Fichtenwälder Clostridium Pasteurianum-Bacillus amylobacter A. M. u. Bred. isoliert hat und daß Düggeli (zit. nach Löhnis[3]), S. 877), sowohl im Laub als in der Nadelstreu Azotobacter konstatiert hat.

Nichtsdestoweniger darf nicht verschwiegen werden, daß es kaum möglich ist, in allen Fällen mit der Stahlschen Auffassung der Bedeutung der epiphytischen Mykorrhizen auszukommen. Es wurde schon gesagt, daß in vielen Fällen der Pilzmantel an der Oberfläche der Mykorrhizen gar nicht zur Ausbildung gelangt und daß es sogar sehr oft nicht einmal zu einer epiphytischen Infektion der Rinde oder der Oberfläche der Fichtenwurzel kommt. In allen diesen Fällen finden wir aber eine endophytische Infektion und in den Zellen die Pilzverdauung vor. Gewiß ist die mit dem endophytischen Leben verbundene Fähig-

[1]) Vergl. z. B. die zusammenfassende Darstellung Kochs, Stickstoffbindung durch Bakterien, im Handwörterbuch der Naturwissenschaften 1912, S. 808.

[2]) Bredemann, Bacillus amylobacter, in morphologischer, physiologischer und systematischer Beziehung. Zentralblatt für Bakteriologie usw. II. Abt. Bd. 33, S. 386 f.

[3]) F. Löhnis, Handbuch der Bakteriologie 1910.

keit zur Assimilation des Luftstickstoffs die primäre Eigenschaft der Fichtenmykorrhizen.

Es erübrigt noch zu erörtern, inwiefern sich die hier vorgetragenen Anschauungen auch auf andere bekannte Fälle von Mykorrhizen übertragen lassen.

Den Mykorrhizen der Kiefer dürfte wohl kaum eine andere Bedeutung zukommen als den Fichtenmykorrhizen. Die Übereinstimmung in den cytologischen Charakteren der beiden Gruppen ist so groß, daß sie keine andere Erklärung zuläßt. Dagegen bleibt bei dieser Symbiose noch sehr viel Unerforschtes, z. B. Näheres über ihre geographische Verbreitung, die Frage, ob sie nicht mehr auf den Sandboden beschränkt ist usw. In dem Spezialfall der Mykorrhizen des Buchenrohhumus scheint es nach unseren bisherigen Kenntnissen, als ob es sich hier bloß um etwa ein Viertel des erforderlichen Stickstoffs handeln könnte, der eventuell durch die Mykorrhizen direkt (durch die Assimilation des elementaren) gedeckt werden dürfte. Denn nach Chevandier produziert 1 ha Buchenwald jährlich 3000 kg Holz und 3000 kg Laub. Dieses Holz enthält etwa 10 kg Stickstoff, das Laub etwa 35 kg. Von diesen 45 kg des jährlichen Verbrauches wird dem Boden durch den herbstlichen Laubfall 35 kg zurückgegeben. Der Rest wird nach Henry[1]) durch die Organismen gedeckt, welche im Laub vegetieren und Luftstickstoff assimilieren, denn bei den Versuchen, welche im Walde ausgeführt worden sind, hat eine bestimmte Menge Laubblätter im Jahre in der Tat durchschnittlich um 0,3 % Stickstoff zugenommen, was bei 3000 kg eben 9 kg Stickstoff pro Jahr und Hektar ausmacht. Daß daran aber nicht unumgänglich die Buchenmykorrhizen beteiligt zu sein brauchen, beweist der Umstand, daß unter ihren Schichten ein schöner Mull abgelagert sein kann. Und diese Humusart enthält wohl ihre spezielle Bakterienflora, denn Weis[2]) hat darin in dänischen Buchenwäldern z. B. die Nitrifikation entdeckt. Bei allen übrigen epiphytischen Mykorrhizen der Waldbäume ist endlich nach der Meinung des Verfassers erforderlich, sie erst cytologisch zu untersuchen, ob z. B. in denselben die Verdauung des Pilzes stattfindet oder nicht usw., bevor an das Studium ihrer physiologischen Eigenschaften herangetreten werden kann.

Andererseits muß nochmals hervorgehoben werden, daß der Fall der Fichtenmykorrhizen, welche sich als endophytisch erwiesen haben, beim näheren physiologischen Studium Pilze ergeben hat, die sich zur

[1]) Zitiert nach Stahel a. a. O.

[2]) Fr. Weis, Über Vorkommen und Bildung der Salpetersäure im Wald- und Heideboden. Zentralblatt für Bakteriologie usw. II. Abt. 1911, Bd. 28, S. 474f.

Assimilation des freien Stickstoffs befähigt zeigten. Und da drängt sich der Analogieschluß auf, ob nicht auch die Bedeutung der typischen endophytischen Mykorrhizen (die Wurzeln der Orchideen, Prothallien der Lycopodiaceen) in der Assimilation des Luftstickstoffs zu suchen wäre. Denn die Erklärung Bernards, nach welcher der Pilz, indem er in einen Orchideensamen eindringt, in demselben die Keimung auslöst dadurch, daß er die Stärke in der befallenen Zelle zur Lösung bringt, was wieder die Konzentration des Zellsaftes erhöht, kann kaum eine Geltung haben für die Würzelchen von Neottia, welche zwar meistens den Pilz beherbergen, aber unter Umständen denselben entbehren können, ohne daß die Zellen die Fähigkeit einbüßen, die Stärke zu lösen. Sehr bemerkenswert erscheinen aber dem Verfasser die mikrochemischen Befunde, welche H. Weyland an den Pilzwurzeln der Neottia gemacht hat[1]) (S. 59f.). Der letztgenannte Autor fand nämlich, daß sich die Pilzschicht in diesen Wurzeln durch einen großen Gehalt an Phosphor auszeichnet. Außerdem waren die Rindenzellen der mykotrophen Orchideen auch durch Kaliumreichtum auffallend. Dieselben Erscheinungen hat nun Weyland auch in den Bakterienknöllchen der Erbse festgestellt (S. 57): „Die Pilzknöllchen von Pisum sativum L. waren außerordentlich reich mit phosphorhaltiger Substanz angefüllt.“ S. 62: „Bemerkenswert ist die außerordentlich starke Kalireaktion in den Wurzelknöllchen von Pisum.“ In den Knöllchen der Leguminosen wurde übrigens auch makrochemisch eine Anhäufung von Phosphorsäure und Kalium konstatiert und der Verfasser erinnert bei dieser Gelegenheit an die von ihm festgestellte Tatsache[2]), daß das Wachstum der aus den Knöllchen der Erle und Myrica isolierten Symbionten[3]) durch den Salzzusatz zu den Kulturen, wobei es sich hauptsächlich um Kali und Phosphorsäure handelt, bedeutend gefördert wird. Alle letztgenannten Organismen gehören nun bekanntlich zu den starken Stickstoffassimilanten. Liegt also nicht die Bedeutung der Orchideensymbiose doch in der Erwerbung des Luftstickstoffs?

---

[1]) H. Weyland, Zur Ernährungsphysiologie mykotropher Pflanzen. Jahrbücher für wissensch. Botanik Bd. LI, 1912.

[2]) J. Peklo, Die pflanzlichen Aktinomykosen. 1910, S. 71.

[3]) Bakterien, welche einerseits mit Bacillus radicicola nahe verwandt sind und andererseits zu der Gruppe der sogen. Actinomyceten auf Grund derselben Eigenschaften zu rechnen sind, auf Grund welcher Bacillus tuberculosis und B. diphtheriae in die Verwandtschaft von Actinomyces hominis, Streptothrix odorifera u. ähnl. gestellt werden.

Über den Zusammenhang von Fusarium nivale, dem Erreger der Schneeschimmelkrankheit der Getreidearten und Wiesengräser, mit Nectria graminicola Berk. et Br.

Von **Josef Weese,**

Assistent der Lehrkanzel für Botanik an der k. k. Technischen Hochschule in Wien.

Wenn im Frühling das erste sprossende Grün aus der langsam dahinschmelzenden Schneedecke hervorlugt, kann man bisweilen auf Rasen und auf mit Wintergetreide bebauten Feldern die auffallende Erscheinung beobachten, daß ganze Flächen abgestorben sind und die toten, schwärzlich verblaßten, der Erde anliegenden Pflänzchen mit einem zarten, spinnengewebeartigen, weißen bis schwach rötlichgrauen Anflug eines Pilzmyzeliums, dem sogenannten „Schneeschimmel", bedeckt erscheinen, der aber nicht von langer Dauer ist und gewöhnlich bald nach beendeter Schneeschmelze anscheinend spurlos zu verschwinden pflegt.

Die erste ausführlichere Schilderung des plötzlichen Auftretens und raschen Verschwindens dieses weißen Überzugs auf Wiesengräsern und Getreidearten verdanken wir dem österreichischen Botaniker Franz Unger[1]), der im Jahre 1842 im Februar und in den ersten Tagen des März diese interessante Erscheinung in Graz studieren konnte und der dann in einer kleinen Arbeit den geheimnisvollen Zauberschleier dieses bisher dunkelrätselhaften Phänomens mit sichtlicher Freude behutsam lüftete. Nach Ungers mikroskopischen Untersuchungen gehört das bald in Flocken, bald in Form eines feinen Anfluges oder eines häutigen Gewebes auf abgestorbenen Pflänzchen auftretende weiße, stellenweise wie mit einem feinen rötlichen Pulver bestreut erscheinende Myzelium zu dem Pilz, den Fries[2]) als Lanosa nivalis Fr. beschrieben hat.

---

[1]) Fr. Unger, Über Lanosa nivalis Frs. Botanische Zeitung, Bd. 2, 16. Aug. 1844, S. 569—575, Taf. IV, Fig. 9—13.

[2]) Elias Magnus Fries, Systema orbis vegetalis. Primas lineas novae constructionis periclitator. Pars I, Plantae Homonemae. Lundae, 1825, 8°, S. 317.

Fuckel[1]) hat unrichtigerweise Lanosa nivalis Fr. als Konidienform von Rhizoctonia betrachtet und die beiden Pilze zu Amphisphaeria zerbina de Notaris gestellt.

Durch Sorauers[2]) Kulturversuche wurde aber klargelegt, daß der Schneeschimmelpilz in die Gattung Fusarium Link[3]) gehört und somit Fusarium nivale (Fr.) Sorauer zu heißen hat. Mit Rücksicht auf die große Ähnlichkeit des Schneeschimmelpilzes, der tatsächlich, wie sich bei Infektionsversuchen zeigte, Getreidepflänzchen oder Grashälmchen zum Absterben bringt und dadurch das sogenannte „Auswintern" der Rasen oder der Wintersaat herbeiführt, mit dem von Brefeld[4]) bei der Kultur von Nectria coccinea (Pers.) Fries[5]) beobachteten Hyphomyzeten gibt Sorauer der Vermutung Ausdruck, daß Fusarium nivale (Fr.) Sor. zweifelsohne der Konidienpilz einer Nectriacee sei, deren Askusform wahrscheinlich erst nach einer entsprechenden Ruheperiode zur Entwicklung kommen dürfte.

Da es nun H. Glück[6]) tatsächlich gelang, bei dem in Abwässern, Kanälen, in Flußwässern und auch in Baumschleimflüssen auftretenden Fusarium aquaeductuum (Radlkofer) v. Lagerheim[7]) den Zusammenhang mit einer Nectria festzustellen, hat nun G. Ihssen[8]) bei seinen gemeinsam mit Hiltner in der Münchener königl. bayrischen Agrikulturbotanischen Anstalt vorgenommenen Studien über die Wirkung der

[1]) Fuckel, Symbolae mycologicae, 1869, S. 142

[2]) Paul Sorauer, Der Schneeschimmel. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten, 1901, Bd. 11, S. 217—228. In dieser Arbeit gibt uns der Verf. auch einen Überblick über die Geschichte der Schneeschimmelkrankheit.

[3]) Magaz. der Gesellschaft der Naturforsch. Freunde, Berlin 1809, Bd. 3, S. 10.

[4]) Oskar Brefeld und Franz von Tavel, Ascomyceten II. Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie, Heft X, Münster 1891, S. 173, Tafel IV, Fig. 22—24.

[5]) Persoon, Icones et Descript, Bd. 2, 1800, S. 47 sub Sphaeria; sub Nectria in Fries, Summa Veget. Scandin., 1849, S. 388.

[6]) Hugo Glück, Der Moschuspilz (Nectria moschata). Engler, Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie, Bd. 31, 1902, S. 495—515, Taf. XV u. XVI.

[7]) L. Radlkofer, Über die Verunreinigung eines der Münchener Trinkwasser. Kunst- und Gewerbeblatt des polytechnischen Vereins für das Königreich Bayern, Januarheft 1863; S. Kitasato, Über den Moschuspilz. Centralblatt f. Bakteriologie u. Parasitenkunde, Bd. 5, 1889; H. v. Lagerheim, Zur Kenntnis des Moschuspilzes, Fusarium aquaeductuum Lagerh. Centralbl. f. Bakt., Bd. 9, 1891.

[8]) G. Ihssen, Fusarium nivale Sorauer, der Erreger der „Schneeschimmelkrankheit", und sein Zusammenhang mit Nectria graminicola Berk. et Br. Mitteilung der kgl. bayrischen Agrikulturbotanischen Anstalt, München. Centralbl. f. Bakteriologie, 2. Abt., Bd. 27, 1910, S. 48—66, 1 Taf. u. 8 Textfig.

Schneeschimmelkrankheit auf Saat und Ernte und über die erfolgreiche Bekämpfung dieses Getreideschädlings ein besonderes Augenmerk auch darauf gerichtet, die vollständige Entwicklung von Fusarium nivale (Fr.) Sor. kennen zu lernen und auf diese Weise den dazugehörigen Schlauchpilz aufzufinden.

Hiltners und Ihssens[1]) ausführliche Untersuchungen ergaben, daß in den meisten Fällen von Schneeschimmelkrankheit bei Getreidepflanzen die Infektion nicht durch im Boden sich befindliches Myzel von Fusarium nivale erfolgt, sondern daß die Samen selbst als Infektionsquelle zu betrachten seien, denn durch mikroskopische Betrachtung von Samen, die sich bei der Keimung als krank erwiesen, ließ sich auf der Innenseite der Samenhaut ganz deutliches, Chlamydosporen zeigendes, über die ganze Oberfläche des Kornes verbreitetes Myzel nachweisen, aus dem es in der feuchten Kammer ohne Schwierigkeiten gelang, die für Fusarium so charakteristischen Konidien zur Entwicklung zu bringen. Bei der Keimung der von Fusariummyzel befallenen Samen treten aus den Chlamydosporen Keimschläuche hervor; die Enden der Hyphen wachsen, indem sie sich verästeln, weiter, befallen die zur Entwicklung gelangenden zarten Wurzelorgane, umwachsen sie und nötigen das Pflänzchen, wenn es sich überhaupt noch seines Feindes erwehren kann, neue Adventivwurzeln zu bilden. Die jungen Sprosse und die Halmscheiden werden ebenfalls ergriffen, die letzteren geschwächt und in ihrem Längenwachstum gehemmt, so daß die Keimlinge häufig die zur Durchdringung des Bodens notwendige Kraft nicht mehr entwickeln können und eingehen müssen, wenn sich nicht durch eine Bodenspalte ein leichterer Ausweg findet. Außerhalb des Bodens keimen daher bei Versuchen die vom Schneeschimmelpilz befallenen Samen infolge des mangelnden Durchdringungswiderstandes meist normal, im Boden bei normaler Saattiefe gehen aber oft nur $^1/_3$ der ausgestreuten Saatkörner auf.

Die an die Bodenoberfläche gelangten Keimpflanzen zeigen aber auch unverkennbare Spuren der durch den Pilz herbeigeführten Schädigung. Im Frühjahr zeigen sich nämlich die von mir eingangs erwähnten, als Schneeschimmel bezeichneten Myzelüberzüge, die sich unter dem Schutze der Schneedecke in den mit feuchter, stagnierender Luft erfüllten, durch die steigende Tagestemperatur herbeigeführten Hohlräumen rasch entwickeln und verbreiten konnten. Nach vollzogener Schneeschmelze vertrocknet infolge wärmerer Winde oder stärkerer Besonnung das Myzelium aber sehr bald und verschwindet anscheinend. Allerdings

[1]) Landwirtschaftliches Jahrbuch für Bayern, 1911, Nr. 1.

in Wirklichkeit ist der Pilz nicht verschwunden, denn auf den vertrockneten Halmscheiden zeigen sich schwach rötliche, kugelige und rasenförmige Konidienlager und zwar hauptsächlich über den Spaltöffnungen, aus denen im Anfangsstadium die Hyphen hervortreten sollen. Die nicht abgetöteten Pflanzen erholen sich jetzt langsam und bilden, da ja gewöhnlich nur die unteren Sproßorgane befallen wurden, neue Triebe aus. Auf den abgestorbenen Pflanzenteilen hört nach einigen Wochen die Konidienabschnürung auf und der Konidienrasen geht nun in ein scheibenförmiges, den Spaltöffnungszellen flach anliegendes Myzelgeflecht über, aus dem sodann anfangs hellbraune, später dunkel schwarzbraune Perithezien mit deutlichen Aszi und Sporen entstehen.

Der auf diese Weise als Askusform von Fusarium nivale Sor. erhaltene Pilz, der nach Ihssen auf den Blättern gewöhnlich frei auf der Epidermis, an den Halmscheiden dagegen etwas in die Oberhaut eingesenkt aufzutreten pflegt, wurde vom genannten Autor als Nectria graminicola Berkeley et Broome[1]) bestimmt, da alle Merkmale mit denen dieses auch auf stark faulenden Grasblättern gefundenen Pilzes übereinstimmen und auch der Vergleich mit dem Exsikkat von Nectria graminicola in Rabenhorst, Fungi europaei Nr. 1652 (leg. G. v. Niessl, Graz) die Richtigkeit der Bestimmung ergeben haben soll.

Um jedoch jeden Zweifel über die Zusammengehörigkeit von Nectria graminicola Berk. et Br. und Fusarium nivale Sor. zu beseitigen, hat Ihssen noch versucht, die Perithezien des erstgenannten Pilzes auch künstlich aus letzterem zu züchten. Zu diesem Zwecke hat er von Fusarium befallenes Getreide unter möglichstem Ausschluß einer Fremdinfektion in Töpfen kultiviert; dann hat er gesunde Getreidepflanzen mit Myzelium oder Konidien von Fusarium nivale infiziert und schließlich bemühte er sich, die Perithezien in einer Reinkulur des Schneeschimmelpilzes zu erhalten.

Bei den ersten beiden Versuchsanordnungen, über die ich mich hier natürlich nicht mehr ausbreiten kann und deshalb auf die interessante Originalarbeit verweise, gelang es ihm, meistens die Perithezien zur Ausbildung zu bringen, im letzten Falle war jedoch alle erdenkliche Sorgfalt und Mühe gänzlich erfolglos. Trotz dieses Mißgeschicks bei der Reinkultur glaubt Ihssen durch seine Untersuchungen in einwandfreier Weise bewiesen zu haben, daß Fusarium nivale Sor. den Konidienpilz von Nectria graminicola Berk. et Br. darstellt und somit letztgenannter Pilz in seinem Konidienstadium als fakultativer Parasit

[1]) Berkeley and Broome in Annals and Magazine of Natural history, 1859, S. 376, Taf. XI, Fig. 40.

zu betrachten sei, dessen Befall allerdings nur unter gewissen der Entwicklung günstigen Bedingungen das Absterben der Wirtspflanze herbeiführt.

Da ich bei meinen Studien über die Arten der Gattung Nectria Gelegenheit hatte, das Originalexemplar von Nectria graminicola Berk. et Br.[1]) aus dem botanischen Museum in Kew (Herbarium Berkeley) zu untersuchen und ich eine Verwechslung dieses Pilzes mit der auch auf Gras gefundenen Nectria pseudo-graminicola Weese[1]) oder Nectriella fuscidula (Rehm) Weese[2]) in Ihssens Arbeit für leicht möglich hielt, wandte ich mich an Herrn Dr. G. Ihssen mit der Bitte, mir eine Probe des Originalmateriales zur Nachuntersuchung zur Verfügung zu stellen. Dr. Ihssen hatte leider das Material bereits voll-vollständig verteilt und riet mir, mich an Herrn Prof. Dr. Gustav Lindau in Berlin zu wenden, der solches erhalten hatte und der es mir auch tatsächlich zu meiner großen Freude aus dem Königl. Botanischen Museum zum Studium überließ.

Der erste Anblick der erhaltenen Roggenhälmchen und -Blättchen, die durch Fusarium nivale Sor. abgetötet worden waren und die die aus dem Schneeschimmelpilze hervorgegangenen Perithezien von Nectria graminicola Berk. et Br. zeigen sollten, brachte mir eigentlich eine kleine Enttäuschung. Mit Aufwendung aller Mühe konnte ich auf diesem Originalmaterial die mir sonst so wohlbekannten Gehäuse der besagten Nectria nicht finden. Es waren nur braune bis schwarze, vollständig eingesenkte, von der Epidermis gänzlich bedeckte Fruchtkörper zu sehen, die aber keinerlei stärkere Ähnlichkeit mit der Nectria graminicola Berk. et Br. zeigten. Durch die mikroskopische Untersuchung erhielt ich allerdings bald Aufklärung, denn ich erfuhr, daß diese äußerlich nur als Flecken zu beobachtenden Perithezien diejenigen sind, die Ihssen bei seinen Untersuchungen im Auge hatte und die vollständig mit seiner Beschreibung und seinen Abbildungen übereinstimmten. Da der Pilz vollständig in das Pflanzengewebe eingewachsen ist und nicht einmal durch die Epidermis hervorbricht, so kann er unter keiner Bedingung als Nectria betrachtet werden. Die Richtigkeit der Angaben Ihssens, wonach er auf Blättern die Perithezien frei auf der Epidermis aufsitzen gesehen haben will, muß ich auf Grund meiner eigenen diesbezüglichen Erfahrung lebhaft bezweifeln. Ihssen muß dadurch getäuscht worden

[1]) Josef Weese, Studien über Nectriaceen. Zeitschrift für Gärungsphysiologie, Bd. I, 1912, S. 137—142.

[2]) Rehm in Hedwigia, 1882, S. 119 und v. Höhnel u. Weese in Annales Mycologici, 1910, S. 466.

sein, daß in einem solchen beobachteten Falle die Epidermis bereits abgehoben war, was ja bei faulenden Pflanzenteilen häufig der Fall ist. Zur Entscheidung der Frage, ob ein Pilz auf alten krautigen Pflanzenteilen wirklich oberflächlich auftritt, sind in den meisten strittigen Fällen zarte Medianschnitte durch Fruchtkörper und Substrat eine unerläßliche Vorbedingung. Eine bloße Betrachtung mit der Lupe genügt hier oft nicht, was allerdings vielleicht nur dem einleuchten wird, der schon mehrmals eine derartige Untersuchung auszuführen hatte.

Übrigens zeigen Ihssens eigene photographischen Abbildungen ganz deutlich, daß die Perithezien der angeblichen Nectria graminicola Berk. et Br. ganz in das Substrat eingesenkt sind und von der charakteristischen Grasepidermis überzogen werden. Oberflächliche Gehäuse sind in diesen Figuren nicht zu sehen. Da nun aber Nectria graminicola Berk et Br. nach meinen Untersuchungen der Originalexemplare aus dem Botanischen Museum in Kew immer ganz oberflächlich auftretende Gehäuse besitzt und sich auch sonst ganz deutlich von dem Ihssenschen Pilz unterscheiden läßt, so kann natürlich der aus Fusarium nivale erhaltene Pilz unmöglich als Nectria graminicola Berk et Br. bezeichnet werden.

Der Pilz auf den durch Fusarium nivale Sor. zum Absterben gebrachten Roggenhälmchen zeigt anfangs braune, später in reiferem Zustande dunkel grauschwarze, kugelig bis ellipsoidische, zartwandig häutige, 180—260 μ breite kahle Perithezien, die subepidermal, stromalos, herden- oder reihenweise auftreten. Die Perithezien besitzen ein deutliches Ostiolum, das von zarten hyalinen, radialgelagerten Fasern und von einer Anzahl Schichten zartwandiger, kleiner, in konzentrischen Kreisen angeordneter Zellen umgeben ist. Die Perithezienwandung ist nur ungefähr 17 μ dick und wird aus flachen, sehr zartwandigen (Zellwanddicke von 0,7 μ bis 1 μ), polyedrischen Zellen gebildet, die bei der Flächenbetrachtung der zerdrückten Perithezien in der Größe von 7—14 μ schwankend ungemein deutlich zu beobachten sind. Die Aszi sind zahlreich, keulig bis spindelförmig, oben abgerundet, zartwandig, achtsporig, sitzend oder fast sitzend, 45—55 μ lang und 7—10 μ breit. Die Sporen sind hyalin, glatt, gerade oder schwach sichelförmig gekrümmt, spindelförmig, gegen die Enden sehr stark verschmälert, manchmal fast spitz erscheinend, meist aber beidendig deutlich abgerundet, nicht eingeschnürt, anfangs nur zwei Querwände, später aber 2 oder 3 deutliche Querwände zeigend, gerade zweireihig angeordnet, 11—16 μ lang und 3—4 μ in der Mitte breit. Paraphysen scheinen vorhanden zu sein.

Das schlüsselförmige oder napfartige Einsinken der Perithezien, das Ihssen bei seiner Beschreibung erwähnt, konnte ich bei dem von mir untersuchten Material nicht beobachten, da die Fruchtkörper unter der Oberhaut auftreten und sich bei solchen zarten häutigen Gebilden auch aus dem Querschnitt (ohne Einbettung in Paraffin) kein zwingender Schluß über die ursprüngliche Form leicht ziehen läßt. Übrigens kann man aus Ihssens Worten auch nicht sicher entnehmen, ob er die schüsselförmige Form der Fruchtkörper selbst gesehen hat.

Bei der flüchtigen mikroskopischen Betrachtung zeigt allerdings der vorliegende Pilz eine gewisse Übereinstimmung mit der auch auf Gräsern auftretenden Nectria graminicola Berk. et Br. Eine eingehendere, genauere Untersuchung läßt aber den Ihssenschen Pilz so verschieden von der echten Nectria graminicola erscheinen, daß wir die beiden Pilze nicht einmal in ein und dieselbe Pyrenomyzetenfamilie einreihen können.

Nach dem Originalexemplare (auf Deschampia caespitosa (L.) Beauv.) aus dem Herbarium Berkeley besitzt die Nectria graminicola Berk. et Br. anfangs kugelige, später aber deutlich schüsselförmig zusammensinkende, mit einer deutlichen Papille versehene, in der Breite zwischen 250 und 280 μ schwankende, kahle, glatte, fleischige, rotbraune Perithezien, die einzeln oder zerstreut herdenweise auf einer zarten bis derben, deutlichen braunen Basalmembran auf der Oberfläche der Epidermis auftreten. An Medianschnitten ist die Basalmembran häufig als deutlicher, von der Gehäusebasis beiderseits ausgehender, derber hornig erscheinender, sich verschmälernder Fortsatz zu beobachten. Die Perithezienwandung ist ungefähr 40 μ breit und wird innen aus dickwandigen, fleischigen, kugeligen oder ellipsoidischen, 5—14 μ großen Zellen aufgebaut, die aber gewöhnlich gegen die Außenseite zartwandiger und polyedrisch werden. Bei der mikroskopischen Betrachtung von zerdrückten Perithezien kann man daher der Täuschung anheimfallen, die Wandung derselben sich entweder nur als zartwandigen, polyedrischen Zellen oder nur aus dickwandigen, fleischigen und kugeligen Zellen aufgebaut zu denken, je nachdem ob die äußere oder die innere Schicht deutlicher zu beobachten ist. Das runde Ostiolum ist deutlich auf der kleinen, lichten, zart radialfaserigen Papille ausgebildet. Die Aszi sind spindelförmig, oben gerade abgeschnitten, zartwandig, sitzend, achtsporig, 50—62 μ lang und $8^1/_2$—10 μ breit. Die Sporen sind hyalin, glatt, spindelförmig, gerade, beidendig abgerundet, deutlich zweizellig, mit je zwei Öltropfen in jeder Zelle versehen, nicht eingeschnürt, schief ein-

reihig oder gerade zweireihig angeordnet, 16—20 μ lang, $3^1/_2$—$4^1/_2$ μ breit. Fädige Paraphysen scheinen vorhanden zu sein.

Ihssens Pilz ist durch seine subepidermal auftretenden, zarthäutigen, grauschwarzen, parenchymatischen Perithezien und seine 2 bis 4zelligen Sporen sehr leicht von der fleischigen, derbwandigen, oberflächlichen, mit zweizelligen Sporen versehenen Nectria graminicola Berk. et Br. zu unterscheiden. G. von Nießl hält zwar die Nectria graminicola für eine Nectriella im Sinne Fuckels[1]) (Synomym: Charonectria Saccardo[2]), also auch für einen subepidermalen Pilz, jedoch die genaue Untersuchung von Exemplaren, die Nießl in Graz selbst auf stark faulenden Grasblättern gesammelt hat und die in Rabenhorst Fungi europaei Nr. 1652 unter Nectriella graminicola von Nießl ausgegeben wurden, zeigte ganz deutlich, daß dieser mit den Berkeleyschen Original vollständig übereinstimmende Pilz ganz oberflächlich auftritt. Winter[3]), der seine kurze Beschreibung nach den von Nießl gesammelten Exemplaren entworfen hat, beschreibt die Nectria graminicola Berk. et Br. auch als oberflächlich.

Von den zwei anderen auf heimischen Gräsern auftretenden Nectria-Arten, der Nectria arenula Berk. et Br.[4]) und der Nectria pseudograminicola Weese[5]), ist die Unterscheidung der Ihssenschen Nectria graminicola ebenso leicht durchzuführen. Auch mit der dem Berkeleyschen Originalexemplar von Nectria graminicola durch die Perithezienstruktur sehr nahestehenden Nectriella fuscidula (Rehm) Weese (Synoym[5]): Nectria dacrymycelloides Rehm[6]) ist der Ihssensche Pilz trotz der Übereinstimmung im subepidermalen Auftreten nicht zu verwechseln.

Ihssens aus Fusarium nivale Sor. erhaltene Pilz ist also nicht die Nectria graminicola Berk et Br., wie er annimmt, sondern überhaupt keine Nectria und muß als eine unreife Leptosphaeria Cesati

---

[1]) Fuckel, Symbolae Mycologicae, 1869, S. 175.

[2]) Saccardo in Michelia I, 1880, S. 72.

[3]) Winter, Pilze, Rabenhorsts Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz, Bd. 1, 1887, S. 120.

[4]) Berkeley and Broome, British Fungi Nr. 622. Annals and Magazine of Natural History, London, 1852, S. 320.

[5]) Josef Weese, Studien über Nectriaceen, I. Mitteilung. Zeitschr. f. Gährungsphysiologie, Bd. 1, 1912, S. 138 u. Fig. 2.

[6]) Rehm in Hedwigia 1903, Beiblatt, S. 175. Exsikkat: Krieger, Fungi saxonici Nr. 1729.

et de Notaris[1]) oder Metasphaeria Saccardo[2]) betrachtet werden, die sich mit Rücksicht auf ihren unreifen Zustand und die große Anzahl von Arten dieser Gattungen, die auf monocotylen Pflanzen bekannt sind, noch nicht sicher bestimmen läßt.

Nach der Winterschen[3]) Beschreibung von Leptosphaeria Avenae Auerswald[4]), die G. v. Nießl auf Avenastrum Parlatorii (Woods) Beck auf dem Hochanger bei Liezen (Steiermark) in einer Höhe von 2300 m gesammelt hat, könnte man schließen, daß der Ihssensche Pilz mit dieser Leptosphaeria zusammenfalle. Die Untersuchung eines Originalexemplars von Leptosphaeria Avenae Auersw. (Syn: Metasphaeria Avenae Saccardo[5]) aus dem Berliner Kgl. Botanischen Museum (Herbar Winter), nach dem Winter seine Beschreibung entworfen hat, und die Einsichtnahme in die Originalnotizen und -Zeichnungen, die mir Herr Hofrat Professor Gustav Nießl von Mayendorf in überaus liebenswürdiger Weise für meine Studien über genannten Pilz zur Verfügung stellte, ergaben jedoch, daß Winters Beschreibung nicht ganz richtig ist und daß die beiden Pilze deutlich verschieden sind. Leptosphaeria Avenae Auersw. besitzt nämlich nicht, wie Winter sagt, häutige Perithezien, sondern fleischige, derbe, die aus 8 bis 20 μ großen, dickwandigen oder wenigstens derbwandigen, polyedrischen Zellen aufgebaut sind und die sich daher auf den ersten Blick von denen des Ihssenschen Pilzes unterscheiden lassen.

Da aber bisher nur Hypocreaceen als Askusformen von Fusarien festgestellt werden konnten und Ihssens Pilz aber eine Sphaeriacee darstellt, so halte ich es für ziemlich ausgeschlossen, daß dieser Pilz als Konidienform zu Fusarium nivale gehört. So ist es z. B. H. Glück gelungen, wie bereits schon eingangs erwähnt wurde, aus Reinkulturen von Fusarium aquaeductuum v. Lagerheim auf Rinde und Holzstückchen von Eiche, die mit sterilisiertem Pflaumendekokt übergossen worden waren, Perithezien einer Nectria zu erhalten, die er Nectria moschata Glück[5]) nannte. Herr Prof. Dr. Hugo Glück hatte die Güte, mir seine Präparate dieses Pilzes, die letzten Reste des Original-

---

[1]) Cesati e de Notaris, Schema di classificazione degli Sferiacei italici aschigeri più o meno appertenenti al genere Sphaeria nell' antico significato attribuilogli da Persoon. Comment. Soc. Crittag. Ital., I. Pt. IV. 1863.

[2]) Saccardo, Sylloge Fungorum, Bd. 2, S. 156.

[3]) Winter, Pilze, 1887, S. 447.

[4]) Mycologia europaea, V./VI. Heft, Taf. 12, Fig. 165.

[5]) Hugo Glück, Über den Moschuspilz und seinen genetischen Zusammenhang mit einem Askomyzeten. Hedwigia, Bd. 34, 1896.

exemplares, zu überlassen, durch deren Untersuchung ich zum Ergebnis kam, daß der Autor seinen Pilz so gründlich und meisterhaft beschrieben hat, daß keinerlei Ergänzung dieser mit trefflichen, vollständig naturgetreuen Zeichnungen ausgestatteten Beschreibung meinerseits notwendig ist. Durch die zarten, weichen, lichten, deutlich geschnabelten und parenchymatischen Perithezien, die von einem Hyphengeflecht bis zum Hals eingeschlossen sind, nähert sich Nectria moschata Glück der Gattung Hypomyces Fr.[1]); nach dem Substrat und nach den beiderseits abgerundeten Sporen paßt der Pilz aber ganz gut zur Gattung Nectria Fr.[1]). Der Pilz nimmt also eine Mittelstellung zwischen Hypomyces und Nectria ein und könnte daher am besten in die Gattung Nectriopsis Maire[2]) gestellt werden, die tatsächlich zwischen den beiden genannten Gattungen steht und Formen umfaßt, die ein byssoides Stroma und beiderseits abgerundete, also keine spitzlichen Sporen besitzen. Nectriopsis zeigt ganz dieselben Charaktere wie die Gattung Byssonectria Karsten[3]), nur in den Sporen liegt ein Unterschied. Nectriopsis hat deutlich zweizellige Sporen, während Byssonectria nur einzellige oder scheinbar zweizellige Sporen besitzt. Eigentlich fallen die beiden Gattungen in manchen Fällen vollständig zusammen, denn manche Autoren halten die Sporen von Nectriopsis violacea (Fries) Maire[4]), dem Typus der Gattung Nectriopsis Maire, für einzellig, so z. B. Fuckel[5]), Karsten[3]), Seaver[6]); andere wie Tulasne[7]) und Maire[2]) betrachten sie für zweizellig und Plowright[8]) findet sie sowohl einzellig als auch zweizellig.

Glück hält seine Nectria moschata für eine mit Nectria Vandae Wahrlich[9]) und Nectria Goroschankiniana Wahrlich verwandte Art. Wie ich aus der allerdings nicht sehr genauen Beschreibung schließen kann, steht sicher Nectria moschata diesen beiden

---

[1]) Fries, Summa veget. Scandin. S. 382, 387.

[2]) R. Maire, Remarques sur quelques Hypocreacées. Annales Mycologici 1911, Bd. 9, S. 323.

[3]) Karsten in Medd. Soc. Fauna Fl. Fenn., Bd. 6, 1881, S. 6.

[4]) Synonym: Hypomyces violaceus (Fries) Tulasne. Fries in hyst. Myc. II., S. 441; Tulasne Annal. Sc. Nat., ser. 4, XIII., S. 14.

[5]) Symbolae Mycologicae, 1869.

[6]) Fred. J. Seaver, The Hypocreales of the North-America, III., Mycologia, II., 1910, S. 65.

[7]) Tulasne, Selecta Fungorum carpologia, 1865, S. 60.

[8]) Plowright, A Monograph of the British Hypomyces, Grevillae, XI., 1882.

[9]) Wahrlich, Beitrag zur Kenntnis der Orchideenwurzelpilze. Botanische Ztg., Bd. 44, 1886, S. 503. Taf. III.

Pilzen nicht sehr nahe. Die beiden von Wahrlich aufgestellten Pilze scheinen zu dem Formenkreis der Nectria Bolbophylli P. Hennings[1]), der die Nectria Behnickiana P. Hennings[1]), Nectria bogoriensis P. Henn.[2]), Nectria Victoriae P. Henn.[3]), Nectria Citri P. Henn.[4]), Nectria calonectricola P. Henn.[4]), Nectria luteo-coccinea v. Höhnel[5]), Nectria citricola P. Henn.[6]), Nectria asperata Rehm[7]) und Nectria Melanommatis Sydow[8]) umfaßt, engere Beziehungen zu haben. Ohne Kenntnis der Originalexemplare läßt sich natürlich nichts Sicheres aussagen; aber ich halte es für sehr leicht möglich, daß beide genannten Orchideenwurzelpilze zu diesem großen Formenkreis gehören und trotz der etwas verschieden erscheinenden Sporen nur Formen ein und derselben Art darstellen. Der von Glück angeregten Zuteilung von Nectria Vandae Wahrl. und Nectria Goroschankiniana Wahrl. zur Gattung Hypomyces Fr. kann ich nicht zustimmen, denn es geht doch nicht an, die Askusform eines Pilzes nach den Eigentümlichkeiten der Konidienform zu einer Gattung zustellen, mit deren Schlauchfruchtform sie nicht übereinstimmt.

Außer Glück ist es auch Butler[9]) gelungen, aus einem Fusarium in der Reinkultur eine Hypocreacee zu ziehen und zwar erhielt er Perithecien von Neocosmospora varinfecta Smith. Appel und Wollenweber[10]) konnten wieder aus Fusarium rostratum die Gehäuse von Gibberella saubinetii züchten und aus einem Kakao-Fusarium eine Nectria als Schlauchform erlangen. Dann ist es auch sehr wahrscheinlich, daß Nectria galligena Bresadola[11]), welcher Pilz nach meinen Untersuchungen[12]) gewisse Krebserkrankungen an den Obst- und

[1]) P. Hennings in Hedwigia, Bd. 45, 1905, S. 171, 172.

[2]) P. Hennings in Herbar Berlin, 1906.

[3]) P. Hennings in Annales Mycologici, 1907, S. 81,

[4]) P. Hennings in Hedwigia, Bd. 48, 1908, S. 104, 105.

[5]) v. Höhnel Fr. im Sitzungsberichte d. Kaiserl. Akad. d. Wissenschaften, Wien, math.-naturw. Kl., 1909, S. 299 u. ebendaselbst, 1912, Bd. 121, S. 368, 369.

[6]) P. Hennings in Herbar Berlin.

[7]) Rehm in Annales Mycologici, 1909, S. 137.

[8]) Sydow in Hedwigia, 1909, S. 79.

[9]) Butler E. J. in Memoirs of the department of Agriculture in India.

[10]) Appel und Wollenweber, Grundlagen einer Monographie der Gattung Fusarium (Link). Arb. a. d. Kaiserl. Biolog. Anstalt f. Land- u. Forstwirtschaft, Berlin, 1910, S. 1—206.

[11]) Strasser in Verh. der K. K. zool. botan. Gesellschaft, Wien, 1901, Nr. 495.

[12]) Weese, Josef, Zur Kenntnis des Erregers der Krebskrankheit an den Obst- und Laubholzbäumen. Zeitschr. f. d. landwirtschaftl. Versuchswesen in Österreich, 1911, S. 872—88, 1. Taf. und Weese, Jos. in Zeitschr. f. Gährungsphysiologie, 1. Bd., 1912, S. 132—137, 1 Fig.

Laubholzbäumen hervorruft, zu einem der vier von Appel und Wollenweber[1]) unterschiedenen Stämmen von Fusarium Willkommii Lindau[2]) gehört. Osterwalder[3]) gelang es, ein bisher unbekanntes Fusarium auf kranken Himbeerwurzeln als Konidienfruktifikation von der nach seiner Anschauung noch nicht bekannten Nectria Rubi Osterw. festzustellen, die aber nach meinen Studien[4]) nur als eine Varietät von Nectria mammoidea Phil. et Plowr.[5]) zu betrachten ist. Und so könnten noch eine Anzahl Nectria-Arten aufgezählt werden, die Fusarien als Nebenfruchtformen besitzen sollen; aber kein einziger Fall ist bisher bekannt, daß ein Fusarium zu einer Sphaeriacee gehört. Der von Ihssen bei seinen Untersuchungen erhaltene Pilz kann daher unmöglich zu Fusarium nivale Sorauer als Askusform gestellt werden, denn er ist meiner Meinung nach sicher nicht aus dem Schneeschimmelpilz hervorgegangen und ganz unabhängig von diesem zur Ausbildung gelangt.

Ihssen konnte aus der Reinkultur von Fusarium nivale Sor. trotz der größten Mühe die Perithezien der angeblichen Nectria graminicola Berk. et Br. nicht erzielen, während es ihm bei den anderen Kulturversuchen, bei denen eine Fremdinfektion nicht nur möglich, sondern auch wahrscheinlich war, ohne weiteres gelang. Obwohl man aus einem mißglückten Versuch, aus dem Konidienpilz die Askusform zu erhalten, nicht gleich schließen darf, daß die beiden Pilze nicht zusammengehören, da man ja die Bedingung zur Gehäusebildung nicht kennt, so glaube ich doch im vorliegenden Falle das negative Ergebnis mit Berechtigung darauf zurückführen zu können, daß die beiden Pilze tatsächlich keinen genetischen Zusammenhang haben. Es ist natürlich selbstverständlich, daß ich hier von Ihssens Metasphaeria oder Leptosphaeria und dem Fusarium nivale spreche und nicht von der echten Nectria graminicola Berk. et Br., für die ja trotz der Ihssenschen Untersuchungen der Zusammenhang mit dem Schneeschimmelpilz möglich ist, geradeso wie es nicht ausgeschlossen erscheint, daß die Nectria pseudograminicola Weese oder die Nectria arenula Berk. et Br. dazu gehört.

---

[1]) Appel u. Wollenweber in Arb. a. d. Kais. Biolog. Anstalt f. Land- u. Forstwirtsch., Berlin, 8. Bd., 1910, S. 1—207.

[2]) Lindau, G., Hyphomycetes i. Rabenhorsts Kryptogamenflora, Leipzig 1910, S. 551.

[3]) Osterwalder, A., Über eine neue auf kranken Himbeerwurzeln vorkommende Nectria und die dazugehörige Fusarium-Generation. Berichte d. Deutsch. Bot. Ges. 29. Bd., Dez. 1911, S. 611—622, 1. Taf.

[4]) Weese, Jos. in Zeitschr. f. Gährungsphysiol., 1. Bd., Mai 1912, S. 126—132.

[5]) Grevillea, 3. Bd., 1875, S. 126, Taf. 42; Fig. 5.

Das Hervortreten der schwach bräunlich gefärbten, häufig etwas gekrümmten, mehrfach septierten Hyphen aus den Spaltöffnungen, das Ihssen als das Anfangsstadium der Konidienlagerbildung von Fusarium nivale beobachtet hat, konnte ich leider nicht mehr sehen, trotzdem ich Stellen untersuchte, an denen die Perithezienbildung erst begonnen hatte. Nach der Meinung meines hochverehrten Chefs, des Herrn Hofrates Prof. v. Höhnel, gehören diese aus den Spaltöffnungen hervortretenden Hyphen, die Ihssen uns in einer Abbildung wiedergibt, gar nicht zum Fusarium nivale Ser., sondern zu irgend einem braunhyphigen Hyphomyceten.

Wenn nun der Zusammenhang von Ihssens Pilz mit Fusarium nivale ganz ausgeschlossen ist, so fällt natürlich die von genanntem Forscher gegebene Erklärung der Infektion des Saatgutes durch Ansteckung der Fruchtanlagen durch zur Blütezeit ausgereifte Askosporen der Perithezien vorläufig auch hinweg. Infektionsversuche mit diesen Askosporen dürften wohl kaum Ihssens Anschauung zu stützen vermögen.

Dr. G. Ihssen hat uns durch seine mit großem Fleiß vorgenommenen Untersuchungen über den Schneeschimmelpilz in biologischer und pathologischer Hinsicht manche sehr interessante Ergebnisse gebracht, aber der Beweis, daß Fusarium nivale Sorauer nur ein Entwicklungsstadium der Nectria graminicola Berk. et Br. darstellt, ist ihm nicht gelungen und die Frage nach der Askusform des Erregers der Schneeschimmelkrankheit der Wiesengräser und Getreidearten ist nach wie vor unbeantwortet.

Zum Schluß danke ich meinem hochverehrten Chef, Herrn Hofrat Prof. Dr. Franz Ritter von Höhnel herzlichst für seine wertvollen Ratschläge, sowie den Herren Prof. Dr. Hugo Glück (Heidelberg), Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. L. Hiltner (München), Dr. G. Ihssen (Helmstedt bei Braunschweig), Prof. Dr. Gustav Lindau (Berlin) und Hofrat Prof. Gustav Nießl von Mayendorf (Wien) für die freundlichen Auskünfte, beziehungsweise für die Überlassung von Untersuchungsmaterial.

Referate.

Stooff. Fortschritte auf dem Gebiete der Beseitigung gewerblicher Abwässer. Journal für Gasbeleuchtung und Wasserversorgung, **55**, 1912, S. 19, 451.

Auf Grund der vorliegenden Literatur bespricht Verf. neben anderen Reinigungsverfahren vor allem die Anwendungsmöglichkeit des biologischen Verfahrens auf gewerbliche Abwässer und erläutert gleichzeitig die Fragen der Schlammbeseitigung und der Verarbeitungsmöglichkeit auf wertvolle Stoffe. In den Kreis der Betrachtung werden gezogen: Schlachthof- und Abdeckereiabwässer, die Abwässer von Gerbereien und Lederfabriken, Brauerei- und Brennereiabwässer, die Spülwässer von Molkereien und Käsereien, die Abwässer von Stärke-, Zucker-, Zellstoff- und Papierfabriken, die Abwässer der Textilindustrie, der Gasanstalten, Kokereien und Ammoniakfabriken, der Braunkohlenschwelereien, Petroleumraffinerien, Paraffin- und Asphaltfabriken und die Kohlenwaschwässer. Es ergibt sich, daß bei den vorwiegend fäulnisfähige Stoffe enthaltenden gewerblichen Abwässern die Anwendung biologischer Reinigungsverfahren möglich ist, andernfalls dagegen häufig mechanisch-chemische Verfahren Platz greifen müssen. Die Verarbeitung der Abwässer auf wertvolle Stoffe ist nicht immer die lohnendste Beseitigungsart.

A. Müller.

Schroeter. Beiträge zur Frage der Sterilisation von Trinkwasser mittels ultravioletter Strahlen. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankheiten, **72**, 1912, S. 189.

Verf. stellte Versuche mit einem Westinghouse-Sterilisator Type B_2 an. Der Apparat soll nach Angabe der Firma, wenn die Lampe mit einer Klemmenspannung von 70 Volt brennt, 600 Liter steriles Wasser in 1 Stunde liefern. Verf. benutzte zu seinen Versuchen Jenaer Leitungswasser, dem teilweise Colikeime und zur Erhöhung der Trübigkeit sterile Milch zugemischt wurde. Bei sämtlichen Versuchen betrug die Durchflußgeschwindigkeit des Wassers durch den Apparat 552 Liter in 1 Stunde. Zur Feststellung der Keimfreiheit wurden bis 20 ccm des Ablaufes verarbeitet. Bei Verwendung klaren Leitungswassers mit 11—22 Keimen in 1 ccm waren die Sterilisationserfolge, wenn die Lampe mit der vorgeschriebenen Spannung brannte, sehr unregelmäßige, erst bei Erhöhung der Spannung auf 130 Volt

wurde in allen Proben vollkommene Sterilisierung erzielt. Ähnlich fielen die Versuche mit Colibakterien aus. Wurde das mit Bact. coli versetzte Leitungswasser gleichzeitig durch Milch getrübt, so gelang es selbst bei ganz geringen Trübungsgraden nicht, auch nur Proben von 1 ccm völlig keimfrei zu machen. Bezüglich der Kostenfrage, der Empfindlichkeit und schweren Regulierbarkeit der einzelnen Lampen sowie der Mängel an der Apparatur kommt Verf. zu den gleichen Erfahrungen wie schon vor ihm Schwarz und Aumann. Zu bemerken ist noch, daß die bei hohen Stromstärken brennenden Lampen schon nach vierstündiger Brenndauer gänzlich unbrauchbar wurden. Verf. kommt in der Hauptsache zu folgenden Schlüssen: 1. Mittels ultravioletter Strahlen, erzeugt durch eine Quarzquecksilberdampflampe, gelingt es, Leitungswasser und durch Coli stark verunreinigtes Wasser vollkommen zu sterilisieren, vorausgesetzt, daß das Rohwasser keinerlei Beimengungen enthält. 2. Bei milchiger Trübung des Wassers selbst von so geringem Grade, daß sie mittels des U. S. Geological Survey Standard Turbidity Scale nicht meßbar ist, ist nur eine Keimverminderung zu erreichen, die um so geringer ist, je stärker der Trübungsgrad ist. 3. Die Sterilisierung von Trinkwasser durch sogen. Hausapparate ist möglich, die Sicherheit aber, daß nur steriles Wasser geliefert wird, ist keine absolute. 4. Zurzeit ist es nicht angängig, die Truppen im Felde allein auf Trinkwasserbereiter durch ultraviolette Strahlen anzuweisen. 5. Die Quarzquecksilberdampflampen sind gegen äußere Einflüsse sehr empfindlich, in ihrem Betriebe schwer zu handhaben und von relativ kurzer Brenndauer. A. Müller.

Kolkwitz, R. Plankton und Seston. Ber. d. Deutschen Bot. Gesellschaft, **30**, 1912, H. 6, S. 334.

Um die besonders in der Süßwasserbiologie häufige mißbräuchliche Anwendung des Begriffes Plankton zu verhüten und diesem seine wesentliche Bedeutung im Sinne von Hensen zu bewahren, schlägt Verf. vor, die Bezeichnung Seston (von σηστός = gesiebt, durch Sieben absonderbar) für alle Bestandteile, die sich durch Sieben zurückhalten lassen, einzuführen. Verf. ist auf diese Bezeichnung durch den Gebrauch der von ihm in die Planktologie eingeführten Metallsiebe gekommen. Man würde also den gesamten Rückstand im Netz oder Sieb nicht mehr als Plankton, sondern als Seston bezeichnen, das sich zusammensetzt aus mineralischem und organischem Detritus (Pseudoplankton) und Organismen, von denen durch nähere Untersuchung festgestellt werden muß, ob sie zum Plankton oder Benthos gehören. Plankton ist also ein Teilbegriff von Seston und ist nach Verf. als die natürliche Gemeinschaft derjenigen Organismen zu definieren, welche im freien Wasser, bei Strömung willenlos treibend, freilebend, normale Existenzbedingungen haben. A. Müller.



Fig. 1.

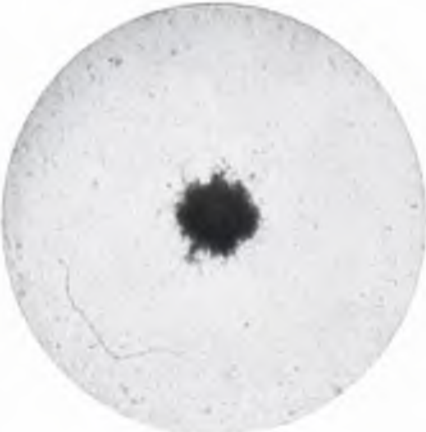


Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.

Barthel phot.

Vergrößerung 30 fach.



Fig. 1.



Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.



Fig. 5.

Barthel phot. Vergrößerung 1000fach.

† Professor Dr. Alfred Fischer.

Einen schweren Verlust hat die Wissenschaft durch das Donnerstag, den 27. März 1913, erfolgte plötzliche Ableben Alfred Fischers erlitten. Der Zeitschrift entriß in ihm der Tod einen hervorragenden Mitherausgeber und warmen Freund.

Professor Fischer wurde am 18. Dezember 1858 geboren. Er studierte in Jena und promovierte dort im Jahre 1880 unter Strasburger, habilitierte sich im Oktober 1882 in Leipzig, wo er als Extraordinarius bis zum Herbst 1902 verblieb. Er hielt dort insbesondere vielbesuchte Vorlesungen und Praktika über Bakterien. Im Jahre 1902 kam Fischer als Ordinarius und Vorstand des botanischen Instituts an die Universität Basel. Dieses verdankt Fischer seine weitgehende Ausgestaltung.

Nach zehnjähriger Lehrtätigkeit in Basel zog sich Prof. Fischer im Jahre 1912 mit Ende des Sommersemesters nach Leipzig, seiner Heimatstadt, zurück, wo er sich als Privatgelehrter ausschließlich der wissenschaftlichen Forschung widmen wollte. Bald suchte ihn aber ein schweres Leiden, das schon während seines Aufenthaltes in Basel aufgetreten war, in verstärktem Maße heim. Sein so tätiges Leben fand ein jähes Ende.

Alfred Fischer war — durchaus neue und originelle Wege einschlagend — auf den verschiedensten Gebieten der Botanik mit Erfolg tätig, indem er die Wissenschaft durch neue Feststellungen und Ideen bereicherte. Eine hervorragende Bedeutung kommt seinem Buche über „Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas“ und seinen ausgezeichneten „Vorlesungen über Bakterien“ zu.

In der letzten Zeit beschäftigte sich der leider so früh verstorbene Forscher mit einer größeren Arbeit über Keimungsreize von Samen der Wasserpflanzen. Kurz vor seinem Scheiden aus Basel stellte Fischer der Redaktion der Zeitschrift eine in seinem Institute entstandene Abhandlung über die „Silikatzersetzung durch Bakterien“ zur Verfügung.

Fischers reiche Betätigung als Forscher ergibt sich aus dem folgenden Verzeichnis seiner wissenschaftlichen Veröffentlichungen.

Die Zeitschrift hat in Professor Dr. Alfred Fischer einen liebenswürdigen wohlwollenden Mitarbeiter und Förderer verloren.

Verzeichnis der wissenschaftlichen Schriften Alfred Fischers.

Zusammengestellt von Dr. K. Bassalik.

1880. 1. Zur Embryosackentwicklung einiger Angiospermen. Jenaische Zeitschr. f. Naturw., Bd. XIV, 1880, S. 90, m. 4 Tafeln. [Separat als Dissertation. Jena.]

2. Über die Stachelkugeln in Saprolegniaschläuchen. Bot. Ztg., 1880, Nr. 41.

1882. 3. Untersuchungen über die Parasiten der Saprolegnieen. Habilitationsschrift von Leipzig. Berlin 1882, 86 S., 3 Tafeln; auch in Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. XIII, 1882, S. 286.

1883. 4. Über die Zellteilung der Closterien. Bot. Ztg., Bd. 41, Nr. 15—18.

5. Über das Vorkommen von Gypskrystallen bei den Desmidiaceen. Pringsh. Jahrb., Bd. XIV, 1883, S. 133—184.

6. Das Siebröhrensystem von Cucurbita (vorl. Mitteil.). Ber. d. d. bot. Ges., Bd. I, 1883, S. 276.

1884. 7. Untersuchungen über das Siebröhrensystem der Cucurbitaceen. Ein Beitrag zur vergl. Anatomie der Pflanzen. 4°, 109 S., m. 6 Tafeln. Berlin, Borntraeger, 1884.

1885. 8. Über ein abnormes Vorkommen von Stärkekörnern in Gefäßen. Bot. Ztg., 1885, S. 89.

9. Über den Inhalt der Siebröhren in der unverletzten Pflanze. Ber. d. d. bot. Ges., Bd. III, S. 230.

10. Studien über die Siebröhren der Dicotylenblätter. Ber. d. kgl. Sächs. Ges. d. Wiss. Leipzig, Sitz. v. 4. 5. 1885, S. 1—48.

1886. 11. Neue Beobachtungen über Stärke in Gefäßen. Ber. d. d. bot. Ges, Bd. IV, 1886, S. XCVII—CII.

12. Neue Beiträge zur Kenntnis der Siebröhren. Ber. d. kgl. Sächs. Ges. d. Wiss., math.-phys. Klasse, 1886, Bd. XXXVIII.

1887. 13. Zur Eiweißreaktion der Zellmembran. Ber. d. d. bot. Ges., Bd. V, 1887, S. 423.

1888. 14. Glykose als Reservestoff der Laubhölzer. Bot. Ztg., 1888, S. 405.

15. Zur Eiweißreaktion der Zellmembran (Replik an Wiesner), Ber. d. d. bot. Ges., Bd. VI, 1888, S. 113.

1890. 16. Über den Einfluß der Schwerkraft auf die Schlafbewegungen der Blätter. Bot. Ztg., Bd. XLVIII, 1890, S. 673.

17. Beiträge zur Physiologie der Holzgewächse. Pringsh. Jahrb., Bd. XXII, 1890, S. 73—160.

1891. 18. Die Plasmolyse der Bakterien. Ber. d. kgl. Sächs. Ges. d. Wiss., math.-phys. Kl., 1891, S. 52.

1892. 19a. Phycomycetes, in Rabenhorst-Winter, Kryptogamen-Flora von Deutschland, Österreich u. Schweiz, Bd. I, 4. Abt., S. 1—192.

1893. 19b. Phycomycetes, dgl. weitere Lieferungen, S. 192—505, Leipzig.

1894. 20. Über die Geißeln einiger Flagellaten. Pringsh. Jahrb., Bd. XXVI, 1894, S. 187.
1895. 21. Untersuchungen über Bakterien. Pringsh. Jahrb., Bd. XXVII, 1895, S. 1—157.
22. Neue Beiträge zur Kritik der Fixierungsmethoden. Anatom. Anzeiger, Bd. X, 1895, S. 769.
1897. 23. Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. 8°, 136 S., 3 Tafeln. Jena 1897.
24. Vorlesungen über Bakterien. Jena 1897.
1898. 25. Brücke, Ernst v., Pflanzenphysiologische Abhandlungen. Herausgegeben von A. Fischer. (Ostwalds Klassiker der exakten Wissenschaften, Nr. 95.) Leipzig 1898. 56 S.
1899. 26. Fixierung, Färbung und Bau des Protoplasmas. Jena 1899. 362 S.
27. Die Bakterienkrankheiten der Pflanzen. Antwort an E. F. Smith. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. V, S. 279.
1900. 28. The structure and function of bacteria. Transl. by A. C. Jones. London 1900.
29. Die Empfindlichkeit der Bakterienzelle und das baktericide Serum. Zeitschr. f. Hygiene, Bd. XXXV, S. 1.
1901. 30. Über Plasmastruktur. Antwort an O. Bütschli. Archiv f. Entwicklungsmechanik, 1901, Bd. XIII, S. 1.
1903. 31. Vorlesungen über Bakterien. Zweite verm. Auflage. 374 S. Jena 1903.
1905. 32. Die Zelle der Cyanophyceen. Bot. Ztg., Bd. 63, S. 51—130, 2 Tafeln.
1906. 33. Vorlesungen über Bakterien. Russ. Übersetzung von M. Raskina. St. Petersburg 1906, 424 S.
34. Über Plasmoptyse der Bakterien. Ber. d. d. bot. Ges., Bd. XXIV, 1906, S. 55.
1907. 35. Wasserstoff- und Hydroxylionen als Keimungsreize. (Vorl. Mitteil.). Ber. d. d. bot. Ges., Bd. XXV, 1907, S. 22.

Die Bestimmung des Keimgehaltes in der Milch durch das Plattenverfahren.

Von Prof. Dr. **M. Klimmer** und Dr. **Sommerfeldt.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Tierärztlichen Hochschule in Dresden.)

Für die hygienische Beurteilung einer Milch besitzt die Bestimmung ihres Keimgehaltes auch heute noch eine nicht geringe Bedeutung. Der Keimgehalt gewährt einen Einblick in die Art und Weise der Gewinnung, Verarbeitung, Aufbewahrung usw. der Milch.

Nicht immer läßt sich die direkte Keimbestimmung durch indirekte und kürzere Verfahren, wie Ermittelung des Schmutzgehaltes, Bestimmung des Säuregrades ersetzen; vielfach ist es notwendig, die Keimmenge unmittelbar festzustellen.

Der direkten Keimbestimmung in der Milch dienen zwei verschiedene Methoden, das Plattenverfahren und die direkte Zählung der Keime unter dem Mikroskop. Ein drittes Verfahren, die Keimbestimmung durch Wägung, welches Straßburger[1]) zur Bestimmung des Keimgehaltes im Kot angegeben hat, sich aber auch zu diesem Zwecke nach unseren Erfahrungen nicht gut eignet, dürfte auf die Milch schon ihres zu geringen Keimgehaltes wegen nicht übertragbar sein. Der Kot ist etwa 1000—100000mal bakterienreicher als eine gewöhnliche Marktmilch.

Die direkte Keimzählung unter dem Mikroskop[2]) stößt, so einfach und rationell sie auch zunächst erscheinen mag, bei der praktischen Durchführung vielfach auf recht große Schwierigkeiten. Es läßt sich mitunter recht schwer entscheiden, ob es sich im Einzelfall um Bakterien oder Farbstoffniederschläge usw. handelt. Von den Schwierigkeiten kann man sich leicht überzeugen, wenn man eine Abschwemmung junger Bakterienkulturen auf den Keimgehalt einerseits nach diesem

---

[1]) Straßburger, Zeitschr. f. klin. Medizin, Bd. 46, S. 413; Bd. 48, S. 491.

[2]) Klein, Centralbl. f. Bakt., I. Abt., 1900, Bd. 27, S. 834; Arch. f. Hyg., Bd. 45, S. 122; Hohewert, Arch. f. Hyg., Bd. 39, S. 32.

Verfahren, andererseits nach der Plattenmethode untersucht und die Ergebnisse miteinander vergleicht. Trotzdem die Verhältnisse hier insofern verhältnismäßig einfach liegen, als es sich nur um eine Bakterienart handelt, so kann man schon hier je nach Wahl der Bakterienart auf nicht unerhebliche Schwierigkeiten stoßen. Wir wollen es unterlassen, näher auf das Für und Wider dieser Methode einzugehen und uns dem Plattenverfahren zuwenden, welches Gegenstand unserer Untersuchungen war.

Während man sich bei sehr vielen chemischen Untersuchungsmethoden auf einheitliche Grundsätze geeinigt hat, nach denen man die Untersuchungen durchzuführen hat, und sich damit in der glücklichen Lage befindet, die Ergebnisse unmittelbar vergleichen zu können, fehlen bei den bakteriologischen Verfahren noch fast völlig solche einheitliche Normen. So sind auch die Keimbestimmungen nach dem Plattenverfahren von den einzelnen Autoren unter so verschiedenen äußeren Bedingungen durchgeführt worden, daß ihre Ergebnisse einen Vergleich nicht zulassen. Mit unseren Untersuchungen über die für vorliegende Zwecke geeignetsten Nährböden, Temperaturen, Kultivierungszeiten, Verdünnungen der Milch, Zählverfahren der aufgegangenen Kolonien suchten wir die Unterlagen für einheitliche Normen zu erbringen.

Bevor wir auf unsere vergleichenden Untersuchungen eingehen, sei kurz auf die vorliegenden Angaben in der Literatur hingewiesen, deren Ergebnisse wir, soweit sie uns hier interessieren, in Tabelle I zusammengestellt haben. Auf bemerkenswerte Einzelheiten werden wir bei den einzelnen Kapiteln zurückkommen.

Eigene Untersuchungen.

Versuchsanordnung. Die verflüssigten und wieder auf 42° abgekühlten in Reagenzgläsern zu je 10 ccm abgefüllten Nährböden wurden mit 0,5 ccm der zu untersuchenden, vorher mit 1prozentiger steriler Kochsalzlösung in den Verhältnissen 1 : 50, 500, 5000, 50 000 und 500 000 verdünnter Milch versetzt, gut durchgemischt und in Petrische Schalen ausgegossen. Große Sorgfalt wurde auf gründliche Durchmischung sowohl der unverdünnten Milch als der einzelnen Verdünnungen und der infizierten Nährböden verwandt. Von den jeweils gewählten Verdünnungen wurden je zwei Platten bei Verwendung von Gelatine, je vier Platten bei Verwendung der verschiedenen Agarnährböden gegossen. Die Gelatine- und die eine Hälfte der Agarplatten wurden bei Zimmertemperatur, die andere Hälfte der Agarplatten bei 37° bebrütet.

Tabelle

Autor	Jahr	Ortschaft	Keimzahl in 1 ccm Minimum	Keimzahl in 1 ccm Maximum
van Geuns[1]	1885	Amsterdam	—	10 545 000
	1889	"	—	2 500 000
Cnopf[2]	1889	München	2 000 000	6 000 000
Clauß[3]	1889	Würzburg	222 000	2 300 000
Bujwid[4]	1890	Warschau	430 000	20 000 000
Renk[5]	1891	Halle	6 000 000	30 700 000
			28 000	860 000
Hohenkamp[6]	1892	Würzburg	1 900 000	7 200 000
Uhl[7]	1892	Gießen	83 100	169 632 000
			10 500	13 635 000
Schuppan[8]	1893	Berlin	—	1 000 000
Knochenstiern[9]	1893	Dorpat	10 000 000	30 000 000
Sacharbekoff[10]	1895	Petersburg	4 000 000	115 300 000
Schmelck[11]	1894	Christiania	300 000	45 000 000
			160 000	6 400 000
			160 000	157 000 000
Kudinow[12]	1896	Dorpat	—	—
Rowland[13]	1895	London	—	—
Frye[14]	1896	Buffalo	48 000	43 600 000
			25 000	25 000 000
von Hellens[15]	1899	Helsingfors	20 000	34 300 000
			70 000	18 630 000
Backhaus[16]	1898	Königsberg	12 000	21 500 000

[1] van Geuns, Arch. f. Hyg., Bd. 3, S. 464; Bd. 9, S. 369.
[2] Cnopf, Centralbl. f. Bakt., Bd. 6, S. 553.
[3] Clauß, Bakt. Unters. d. Milch usw. Diss. med. Würzburg 1889.
[4] Bujwid, Ref. Baumgarten Jahresber. 1890, S. 553.
[5] Renk, Münch. med. Wochenschr. 1891, H. 6 u. 7.
[6] Hohenkamp, mitget. v. Schulz, Arch. f. Hyg., Bd. 14.
[7] Uhl, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 12, S. 475.
[8] Schuppan, Centralbl. f. Bakt. 1893, Bd. 13, S. 527.

I.

im: Mittel	Jahreszeit	Nährboden	Bemerkungen
—	—	Gelatine	Marktmilch
—	—		
4 000 000	—	—	"
1 261 000	Winter	—	"
10 215 000	—	—	"
18 350 000	—	—	"
444 000	—	—	Kindermilch
4 550 000	Sommer	—	Marktmilch
84 841 500	Mai	—	"
6 875 000	Juni	—	
383 000	Herbst	Traubenzucker-gelatine	Kindermilch; ca. 200 Untersuchungen
20 000 000	—	—	Marktmilch
59 650 000	—	—	"
2 800 000	August	—	"
1 500 000	November	—	
38 200 000	—	—	"
38 200 000	—	Gelatine	"
14 100 000	—	Agar, 37°	
20 400 000	—	Gelatine	Milch aus Milchgeschäften
5 000 000	—	Agar, 37°	
500 000	—	—	Marktmilch
21 824 000	—	—	"
12 625 000	—	—	
4 745 000	Sommer	Gelatine	"
2 111 000	Winter		
3 201 125	—	Gelatine	im Mittel
2 560 000	—	Agar bei Zimmer-temperatur	" "
428 400	—	Agar, 37°	" "
2 000 000	—	—	Marktmilch

9) Knochenstiern, Centralbl. f. Bakt., Bd. 15, S. 318.
10) Sacharbekoff, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 1896, Bd. 2, S. 545.
11) Schmelck, Milchztg. 1894, Bd. 23, S. 428.
12) Kudinow, ref. v. Hellens, s. d.
13) Rowland, The British med. journ. 1895, Bd. 2, S. 321.
14) Frye, New York med. Rec. 1896, II, S. 442.
15) v. Hellens, Diss. Helsingfors 1899.
16) Backhaus, Milchztg. 1898, S. 83.

Tabelle I

Autor	Jahr	Ortschaft	Keimzahl in 1 ccm	
			Minimum	Maximum
Rottig [1])	1896	Halle	6 000 000	41 674 000
Harrison [2])	1898	Guelph (Canada)	121 000	1 200 000
Sedgwick u. Batchelder	—	Boston	—	2 350 000 4 577 000
Russel	1902	Wisconsin	25 300	15 827 000
Klimmer [3])	1902	Dresden	58 710	110 000
Hempel [4])	1906	Ohorn	—	—
Park [5])	1901	New York	250 000	5 000 000
			2 766	10 583
			21 666	76 000
			48 000	680 000
			31 000	210 000
Dean [6])	1902	—	8 295	9 420
			9 845	17 155
			640	2 350
			215 400	806 320
			13 080	93 420
			355	1 702
von Freudenreich [7])	1906	Jena	—	806 000 000 812 500 000
Loveland u. Watson [8])	1895	Middletown Conn.	11 000	85 500 000
		Madison	15 000	2 000 000
Gernhardt [9])	1893	Dorpat	2 000 000	117 000 000
Haarmann u. Appel	—	Königsberg	25 000	49 020 000
Pusch [10])	1908	Dresden	2 900	3 700
			3 800	6 000
			6 600	9 700
			6 700	9 300
			9 400	12 200
			13 200	15 300
			8 900	10 700
			7 900	9 200
			9 600	10 400
			9 200	11 100

[1]) Rottig, Diss. Halle a. S. 1896.
[2]) Harrison, Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 1899, Bd. 5, S. 183.
[3]) Klimmer, Zeitschr. f. Tiermedizin, Bd. 6, S. 197.
[4]) Hempel, Münch. med. Wochenschr. 1906, S. 300.
[5]) Park, Centralbl. f. Bakt., Bd. 29, S. 443.

(Fortsetzung).

im: Mittel	Jahreszeit	Nährboden	Bemerkungen
23 837 000	—	—	Marktmilch
650 000	—	—	im Mittel einiger Jahre. Marktmilch
—	—	—	beim kleinen Milchhändler
—	—	—	in Molkereien
3 664 000	—	—	Marktmilch
—	—	—	Eselmilch
1 600	—	Albumose-agar	Kindermilch
2 625 000	—	—	Marktmilch
6 675	—	—	sehr reinl. gewonn. Mischmilch (Min. 24 Stdn., Max. 48 Stdn. nach dem Melken)
48 833	—	—	reinlich gewonnene Milch (Min. 24 Stdn., Max. 48 Stdn. nach dem Melken)
364 000	Sommer	—	auf gewöhnliche Art gewonnene Milch (Min. 24 Stdn., Max. 48 Stdn. nach dem Melken)
120 500	Winter	—	auf gewöhnliche Art gewonnene Milch (Min. 24 Stdn., Max. 48 Stdn. nach dem Melken)
8 857	—	—	reine, trockene Kühe
13 500	—	—	schmutzige Kühe
1 495	—	—	feuchte Kühe
510 860	—	—	schmutzige Milchgefäße
53 250	—	—	besser gereinigte Milchgefäße
1 028	—	—	mit Dampf sterilisierte Milchgefäße
—	—	Milchagar	nach 24 Stdn. bei 25° C
—	—	Milchagar	nach 24 Stdn. bei 35° C
42 755 500	—	—	Marktmilch
1 007 500	—	—	Marktmilch
—	—	—	—
24 522 500	—	—	Marktmilch
3 300	März	Albumose-agar	sehr sauber gewonnene Milch des Rassestalles der Tierärztlichen Hochschule zu Dresden, kurz nach dem Ermelken
4 200	"	Albumose-agar	"
8 150	April	Albumose-agar	"
8 000	"	Albumose-agar	"
10 800	Mai	Albumose-agar	"
14 250	"	Albumose-agar	"
8 800	Juni	Albumose-agar	"
8 550	"	Albumose-agar	"
10 000	Juli	Albumose-agar	"
10 150	"	Albumose-agar	"

[6]) Dean, zit. nach Barthel, Bakter. d. Molkereiwesens 1902. Leipzig.
[7]) Freudenreich, Bakteriol. in der Milchwirtschaft 1906, Jena.
[8]) Loveland und Watson, Ref. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., Bd. 1, S. 758.
[9]) Gernhardt, Zentralbl. f. Agrik.-Chemie 1894, Bd. 23, S. 791.
[10]) Pusch, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere, Bd. 3, Heft 5.

Tabelle I

Autor	Jahr	Ortschaft	Keimzahl in 1 ccm	
			Minimum	Maximum
Pusch [1])	1908	Dresden	10 700	12 100
			11 900	13 700
			8 700	10 300
			6 900	8 200
Bohrisch u. Beythien [2])	1900	"	1 131 000	5 500 000
			250 000	1 100 000
Proskauer, Seligmann [3])	1907	Berlin	43 000	2 000 000
			290 000	11 500 000
Cunnigham [4])	—	Calcutta	3 400	349 000
Auernhammer [5])	1907	München	204 000	4 250 000
Szasz [6])	1907	Budapest	53 000	18 000 000
Kaumanns [7])	1909	Chicago	10 000	18 000 000

Das Zählen der Kolonien wurde meistens nach zwei Tagen zum ersten Male vorgenommen und solange täglich wiederholt, bis keine neuen Kolonien mehr aufgingen. War dieses erreicht, so wurde vier bis fünf Tage später eine letztmalige Zählung vorgenommen. Hierbei wurde ein erneutes Auswachsen von Kolonien in unseren Versuchen nicht mehr beobachtet.

War die Zahl der auf den Platten ausgewachsenen Kolonien nicht größer als 4—500, so wurden alle Kolonien ausgezählt. Bei größeren Mengen wurden mehrere, je nach der Zahl der Kolonien, größere oder kleinere Sektoren mit Hilfe der Lafarschen Zählscheibe ausgezählt und hiernach die Gesamtzahl der Kolonien auf der Platte berechnet. Um manche Kolonien nicht doppelt zu zählen, betupften wir die Rückseite der Platte über jedem Keim mit Tinte.

Die Zählung der Kolonien wurde zunächst mit unbewaffnetem Auge ausgeführt und dann unter dem Mikroskop bei schwacher (20—50facher)

[1]) Pusch, a. a. O.

[2]) Bohrisch und Beythien, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel 1900, Bd. 3, S. 319.

[3]) Proskauer, Seligmann und Croner, Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 57, 1907, S. 133.

[4]) Cunnigham, Arch. f. Hyg., Bd. 12, S. 173.

[5]) Auernhammer, Diss. med. München 1907.

[6]) Szasz, Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1907, Bd. 17, S. 353.

[7]) Kaumanns, Berl. Molkerei-Ztg 1909, Bd. 19, S. 242.

(Fortsetzung).

im: Mittel	Jahreszeit	Nährboden	Bemerkungen
11 400	August	Albumoseagar	sehr sauber gewonnene Milch des Rassestalles der Tierärztlichen Hochschule zu Dresden, kurz nach dem Ermelken
12 800	"		
9 500	September		
7 550	"		
—	Sommer	—	Marktmilch
—	Winter	—	
—	Winter	—	"
—	Sommer	—	
80 000	—	—	"
—	—	—	—
—	—	—	—
—	—	—	—

Vergrößerung kontrolliert, wobei der für diese Zwecke recht praktisch konstruierte Hessesche Schlittenapparat[1]) gute Dienste leistete.

Bei nicht zu dichter Aussaat und hinlänglicher Bebrütung (vier bis acht Tage) gibt die Zählung mit unbewaffnetem Auge zuverlässige Ergebnisse, bei sehr dichter Aussaat und kurzer Bebrütung kann es jedoch vorkommen, daß mit unbewaffnetem Auge Kolonien übersehen werden. Durch entsprechende Verdünnung der Milch und ausreichende Bebrütungszeit läßt sich dieser Übelstand leicht vermeiden. Nimmt man die Zählung unter dem Mikroskop vor, so ist auf die Verwendung klarer Nährböden ohne Bodensatz ganz besonders zu achten.

I. Welche Nährböden eignen sich am besten zur Keimbestimmung nach den Plattenverfahren?

Als Nährböden für fragliche Zwecke haben Verwendung gefunden:

1. Gewöhnliche Nährgelatine von v. Geuns, Kudinow, Frye, v. Hellens, Schuppan usw.
2. Gewöhnliches Nähragar von Kudinow, Frye, v. Hellens usw.
3. Albumoseagar nach Hesse von Pusch und Schröder.
4. Molkenpeptongelatine bzw. -agar nach Leichmann (Milchzeitung Bd. 25, S. 68).

[1]) Hesse und Niedner, Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. 53, S. 259. Der Schlitten ist bei O. Leuner, Dresden, Technische Hochschule, Mechanisches Institut, erhältlich.

5. Fleischwasser-Molkenpeptongelatine nach Peter (Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz Bd. 16, S. 494).
6. Milchagar nach v. Freudenreich (Centralbl. f. Bakt. II, Bd. 1, S. 169).
7. Somatoseagar nach Lux (Centralbl. f. Bakt. II, Bd. 11, S. 196) usw.

Vergleichende Versuche liegen von Kudinow, Frye und v. Hellens über Gelatine und Agar vor.

Kudinow züchtete die Milchkeime einerseits auf Gelatine bei Zimmertemperatur, andererseits auf Agar bei 37°. Er fand, daß im ersteren Falle drei- bis viermal soviel Keime aufgingen als auf Agar bei 37°.

v. Hellens stellte nicht nur Gelatine und Agar gegenüber, sondern ließ die Kolonien auf Agar auch teils bei Zimmertemperatur, teils bei 37° auswachsen. Er fand, daß die Zahl der auf Agar bei 37° gewachsenen Kolonien gegenüber den auf Gelatine aufgegangenen Kolonien noch geringer war, als wie dies Kudinow beobachtete, und im Mittel nur etwa $^1/_7$ bis $^1/_8$ von jenen betrug. Der Unterschied glich sich aber fast völlig aus, wenn er auch die Agarplatten bei Zimmertemperatur hielt. Der Keimgehalt, berechnet nach den bei Zimmertemperatur gehaltenen Agarplatten, betrug im Mittel 2600000 Keime, nach den Gelatineplatten 3200000 in 1 ccm derselben Milchproben.

Frye konnte überhaupt keinen wesentlichen Unterschied im Wachstum der Keime auf Gelatine- und Agarplatten feststellen.

Lux fand pro ccm Milch in	Molkengelatine . .	1401 Keime
" " " " " "	gewöhnliche Gelatine	649 "
" " " " " "	Molkenagar	1395 "
" " " " " "	Somatoseagar . . .	712 "

Severin und Budinoff (Centralbl. f. Bakt. II, Bd. 14, S. 465) bestimmten für den Keimgehalt von je 1 ccm vier verschiedener Milchproben folgende Werte:

Bei Verwendung von:	1. Milchprobe:	2. Milchprobe:	3. Milchprobe:	4. Milchprobe:
Molkengelatine	7415000	360832	3891000	2288000
Fleischgelatine	4822000	199764	3418000	4670000
Molkenagar .	—	447695	—	—
Fleischagar .	4192000	224735	3869000	3845000

Zu unseren vergleichenden Untersuchungen verwendeten wir:

1. Gewöhnliche Nährgelatine, bestehend aus 125 g Gelatina albissima, 10 g Liebigs Fleischextrakt, 10 g Pepton. sicc. Witte, 5 g Kochsalz, 1000 ccm destilliertes Wasser.

2. Gewöhnliches Nähragar, wie oben, nur an Stelle der Gelatine 15 g Stangenagar.
3. Glyzerinagar, wie zuvor + 2 % Glyzerin.
4. Traubenzucker, wie unter 2. + 2 % Traubenzucker.
5. Milchzuckeragar, wie unter 2. mit Zusatz von 4,5 % Milchzucker.

Die unter 1—5 genannten Nährböden wurden gegen Lackmuspapier genau neutralisiert und wie gewöhnlich mit 10 ccm Normalsodalösung auf 1 Liter Nährboden alkalisiert.

6. Milchserumagar, derselbe besteht aus:

a) einem Wasseragar folgender Zusammensetzung: 20 g Agar, 5 g Kochsalz, 1000 ccm destilliertes Wasser.

b) Milchserum. Das Milchserum wird in folgender Weise gewonnen: Frisch und sauber gewonnene Milch wird auf 40° erwärmt und mit Lab versetzt (auf zwei Liter Milch 0,048 g Pulvis ad serum lactis parandum, Gehe & Co., mit Wasser angerührt und der Milch beigemischt). In 10 Minuten ist die Milch vollständig geronnen. Das Gerinnsel wird auf ein an den vier Zipfeln frei aufgehängtes Seihetuch gegeben. Das abfließende Serum muß zuächst ein oder zwei Papierfilter passieren und wird schließlich durch Asbestfilter geschickt, bis es nahezu klar und nur noch leicht opaleszierend ist. Da das Auspressen und Filtrieren des Serums mehrere Stunden dauert, ist es im kühlen Raum vorzunehmen. Das Serum wird auf sterile Flaschen abgefüllt und mit Chloroform sterilisiert (5 ccm auf 100 ccm Serum). Die Flaschen werden mit ausgekochten Gummistopfen und Gummikappe verschlossen. Nach 14 Tagen ist bei sauberem Arbeiten das Serum steril. Das sterile Milchserum ist lange haltbar und kann in Vorrat genommen werden.

Vor der Verwendung des Milchserums ist es auf Keimfreiheit zu prüfen. Bei der Verwendung des Serums wird es vorsichtig vom Bodensatz (Chloroform) abgehoben, auf 40—42° erwärmt, mit verflüssigtem und auf 42° wieder abgekühlten Wasseragar zu gleichen Teilen vermischt, während etwa ½—1 Stunde (während dessen die weiteren Vorbereitungen zum Plattengießen, Verdünnungen der Milch usw. getroffen wurden) bei 40—42° gehalten, mit der zu untersuchenden Milch versetzt und in Petrische Schalen ausgegossen.

Das vom Milchserum absorbierte Chloroform wird durch den Agar hinlänglich verdünnt, bzw. dunstet so schnell ab, daß es die zugefügten Milchkeime nicht zu schädigen vermag, wie wir uns durch entsprechende

Kontrollen (völliges Abdunsten des Chloroforms im Brutofen vor Verwendung des Milchserums) mehrfach überzeugt haben.

Ergebnisse.

Bei unseren Untersuchungen über die geeignetsten Nährböden zur Kultivierung der Milchkeime überzeugten wir uns sehr bald, daß der Zusatz von Traubenzucker und Glyzerin zum Agar besondere Vorteile nicht bietet; wir ließen diese Nährböden bald aus und be-

Tabelle II.

Milch Nr.	Gewöhnliches Agar ccm	Milchzucker-agar ccm	Milchserum-agar ccm	Gelatine ccm
1	200 000	700 000	600 000	1 000 000
2	*122 000 000*	80 000 000	103 000 000	Flüssig
3	89 000 000	67 500 000	120 500 000	"
4	*7 400 000*	350 000	600 000	1 600 000
5	14 700 000	*22 200 000*	5 000 000	16 700 000
6	4 300 000	*8 300 000*	7 000 000	6 900 000
7	8 100 000	6 500 000	*19 800 000*	9 100 000
8	183 900 000	48 000 000	*186 000 000*	385 000
9	2 200 000	2 700 000	4 500 000	Flüssig
10	3 400 000	4 800 000	*10 400 000*	3 300 000
11	4 700 000	5 800 000	*9 300 000*	*11 100 000*
12	36 300 000	49 100 000	*71 500 000*	*84 300 000*
13	23 900 000	32 600 000	39 400 000	Flüssig
14	71 800 000	69 900 000	*91 900 000*	70 200 000
15	34 900 000	42 500 000	*45 400 000*	45 200 000
16	*5 250 000*	4 500 000	2 600 000	3 400 000
17	*1 800 000*	1 600 000	1 700 000	1 600 000
18	7 800 000	7 300 000	*8 300 000*	*2 900 000*
19	14 400 000	11 300 000	*29 400 000*	*31 500 000*
20	8 900 000	12 300 000	*18 800 000*	17 900 000
Mittelzahlen aller Milchversuche	32 200 000	23 900 000	*38 800 000*	—
Mittelzahlen der Versuche bei Zimmertemperatur mit Milch 1, 4—8, 10—12, 14—20. Bei den übrigen Proben trat eine vorzeitige Verflüssigung der Gelatine ein	25 490 000	18 440 000	*31 800 000*	19 400 000

Tabelle III.

Zeit in Tagen	Agar gewöhnlich						Milchzuckeragar						Milchserumagar						Gelatine		Gesamtprozentzahlen der Agarnährböden	
	bei 37°				bei Zimmertemperatur		bei 37°				bei Zimmertemperatur		bei 37°				bei Zimmertemperatur					
	1 : 100	1 : 1000	1 : 10 000	1 : 100 000	1 : 10 000	1 : 100 000	1 : 100	1 : 1000	1 : 10 000	1 : 100 000	1 : 10 000	1 : 100 000	1 : 100	1 : 1000	1 : 10 000	1 : 100 000	1 : 10 000	1 : 100 000	1 : 10 000	1 : 100 000	bei 37°	bei Zimmertemperatur
1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—	—	—	—	0,83	—
3	—	1	4	4	—	—	1	—	5	5	—	—	1	—	5	5	—	1	—	—	11,67	0,42
4	3	2	8	9	3	3	1	2	9	9	4	4	1	2	7	8	4	4	—	1	20,84	9,16
5	1	1	5	4	6	7	2	2	5	5	5	9	2	1	7	6	7	8	3	3	13,33	17,5
6	1	1	1	2	8	6	—	—	1	1	8	5	—	—	1	—	6	5	6	5	2,5	15,84
7	—	—	1	1	2	3	—	—	—	—	2	1	—	—	—	—	2	2	1	1	0,83	15,0
8	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	1	1	—	—	—	—	1	—	—	—	—	1,66
9	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0,42
10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Im Mittel in Tagen	4,6	4,4	4,2	4,35	5,6	5,65	4,25	4,5	4,1	4,1	5,55	5,3	4,25	3,75	4,2	3,95	5,45	5,15	5,8	5,6	4,22	5,45

schränkten uns des weiteren auf Nährgelatine, Nähragar, Milchzuckeragar und Milchserumagar. Berücksichtigen wir im folgenden nur noch diese Nährböden und des Vergleiches wegen zunächst nur die Bebrütung der Platten bei Zimmertemperatur, so wurden bei einem Milchzusatz von $^1/_{100000}$ ccm enthalten in 0,5 ccm Kochsalzlösung die in Tabelle II vorgeführten Ergebnisse erhalten.

Wie es aus den vergleichenden Untersuchungen hervorgeht, wachsen auf Milchserumagar zumeist und im Mittel die meisten Kolonien aus, nämlich bei den untersuchten Milchproben — berechnet auf 1 ccm unverdünnte Milch — im Mittel:

auf Milchserumagar . . .	38,8	bzw.	31,8	Millionen
„ gewöhnlichem Agar . .	32,2	„	25,5	„
„ Milchzuckeragar . . .	23,9	„	18,4	„
„ Gelatine	—	„	19,4	„

Die gewöhnliche Gelatine ist an und für sich ein ganz guter Nährboden für die Milchkeime, aber infolge ihrer öfteren vorzeitigen Verflüssigung (zuweilen schon am zweiten und dritten Tage) für vorliegende Zwecke unzuverlässig. Hinsichtlich der Zahl der aufgegangenen Kolonien ist der Milchserumagar der geeignetste Nährboden für die Bestimmung des Keimgehaltes der Milch im Plattenverfahren.

Bei der Wahl des Nährbodens ist sein Einfluß auf die Schnellwüchsigkeit der Kolonien, wenn schon von untergeordneter Bedeutung, so doch auch noch zu berücksichtigen. In der Tabelle III sind die diesbezüglichen Beobachtungen über die jeweilig am frühesten erreichte Höchstzahl der Kolonien unter den verschiedensten Bedingungen zusammengestellt.

An dieser Stelle interessieren uns zunächst nur der jeweilig letzte Stab unter den angeführten Nährböden (Zimmertemperatur und $^1/_{100000}$ ccm Milchzusatz). Hiernach brauchen die Kolonien:

bei Aussaat auf Milchserumagar . .	5,15	Tage,
Milchzuckeragar	5,3	„
gewöhnlicher Gelatine	5,6	„
gewöhnlichem Agar	5,65	„

bis zum zählbaren Auswachsen.

Also auch hinsichtlich der Schnellwüchsigkeit der Kolonien bietet der Milchserumagar die besten Bedingungen.

II. Bei welcher Temperatur sind die Platten zu bebrüten?

Bereits v. Hellens wies darauf hin, daß unter sonst gleichen Bedingungen bei Zimmertemperatur mehr Kolonien aufgehen als bei 37°. Diese Beobachtungen fanden wir bei unsern Versuchen bestätigt. Wir beschränken uns darauf, die mit gewöhnlichem Agar erhaltenen Resultate mitzuteilen, und bemerken dazu, daß auch bei den anderen Nährböden ähnliche Ergebnisse erhalten wurden.

Tabelle IV.

Milch Nr.	Agar gewöhnlich	
	bei 37° C	bei Zimmertemperatur
1	100 000	200 000
2	22 500 000	*122 000 000*
3	62 500 000	89 000 000
4	1 200 000	*7 400 000*
5	9 300 000	14 700 000
6	3 800 000	4 300 000
7	3 600 000	8 100 000
8	7 800 000	183 900 000
9	2 400 000	2 200 000
10	900 000	3 400 000
11	3 900 000	4 700 000
12	27 300 000	36 300 000
13	33 800 000	23 900 000
14	62 200 000	71 800 000
15	31 900 000	34 900 000
16	3 300 000	*5 250 000*
17	900 000	*1 800 000*
18	4 300 000	7 800 000
19	2 800 000	14 400 000
20	8 400 000	8 900 000
Mittelzahlen aller Milchversuche	14 600 000	32 300 000

Vergleichen wir die Mittelzahlen auch bei den anderen Nährböden, so wurden bei einem Zusatz von $^1/_{100000}$ ccm Milch unter Verwendung von

Milchserumagar bei 20° 38,8 Mill., bei 37° 27,8 Mill.,
Milchzuckeragar „ 20° 23,9 „ „ 37° 15,8 „

gezählt. Im allgemeinen wachsen bei Zimmertemperatur etwa ein Drittel mehr Kolonien aus als bei 37°.

Die Tatsache, daß die Kolonien bei 37° etwas schneller auswachsen als bei Zimmertemperatur (vergl. Tabelle III) kann hierbei umso weniger ins Gewicht fallen, als der Unterschied nur gering ist. Bei 37° brauchen die Kolonien im Mittel 4,22 Tage, bei Zimmertemperatur 5,45 Tage.

III. In welcher Konzentration ist die zu untersuchende Milch zu verarbeiten?

Der gefundene Keimgehalt wird von dem Verdünnungsgrad der Milch wesentlich beeinflußt. Durch schrittweise Verdünnung der Milch (jeweilig 1 : 10) und gründliches Durchmischen werden Bakterienverbände mehr und mehr gelöst, die Bakterien einzeln verteilt und damit ein höherer Keimgehalt — berechnet auf 1 ccm unverdünnte Milch — gefunden. Zur Illustrierung seien nur folgende Beobachtungen aus den zahlreichen Versuchen mitgeteilt.

Tabelle V.

Nährboden: Milchserumagar.			
Temperatur: 37° C			
1 : 100	1 : 1000	1 : 10 000	1 : 100 000
644 000	790 000	820 000	1 000 000
2 960 200	3 900 000	3 710 000	4 500 000
1 968 400	2 520 000	2 910 000	4 400 000
4 345 200	6 231 000	7 910 000	10 700 000

Eine entsprechende Verdünnung der Milch empfiehlt sich auch aus dem Grunde, daß die Kolonien hinlänglich isoliert aufgehen und sich ungestört entwickeln können.

Die zweckmäßigste Verdünnung dürfte die sein, bei der 50—500 Kolonien auf der Platte wachsen. Wenn sich der Keimgehalt und die danach vorzunehmende Milchverdünnung nicht voraussehen läßt, ist die Milch in verschiedenen Verdünnungsgraden zu verarbeiten. Bei einer Marktmilch dürfte zumeist eine Verdünnung der Milch 1 : 5 000 und 1 : 50 000 am zweckmäßigsten sein. Die unverdünnte und verdünnte Milch ist zur gleichmäßigen Verteilung der Keime vor dem Verarbeiten gründlichst durchzumischen. Die Menge der zum Nährboden hinzuzugebenden verdünnten Milch betrage $^1/_2$ ccm.

IV. Wie lange ist die Bebrütung der Platten auszudehnen?

Die Kolonien der bei Zimmertemperatur gehaltenen Platten waren ausgewachsen:

	bei Agar gew.	bei Milchzucker-agar	bei Milchserum-agar	bei Gelatine
Am 2. Tage	—	—	—	—
„ 3. „	—	—	2,5 %	—
„ 4. „	15,0 %	20,0 %	20,0 „	5 %
„ 5. „	32,5 „	35,0 „	37,5 „	30 „
„ 6. „	35,0 „	32,0 „	27,5 „	55 „
„ 7. „	12,5 „	7,5 „	10,0 „	10 „
„ 8. „	2,5 „	5,0 „	2,5 „	—
„ 9. „	2,5 „	—	—	—
Im Mittel:	5,6 Tage	5,4 Tage	5,3 Tage	5,7 Tage

Die Zeit, die zum Auswachsen der Milchkeime bei Zimmertemperatur notwendig ist, schwankt also bei gewöhnlichem Agar zwischen dem 4. und 9. Tage, bei Milchzuckeragar und Milchserumagar zwischen dem 4. und 8. Tage und bei Gelatine zwischen dem 4. und 7. Tag.

Hiernach ist die Bebrütung 8 bezw. 9 Tage lang fortzusetzen.

Zusammenfassung.

I. Die Zahl der im Plattenverfahren mit Agarnährböden nachweisbaren Milchkeime ist, abgesehen von der Art der Keime, abhängig von:

1. der Züchtungstemperatur,
2. dem Verdünnungsgrad der zu untersuchenden Milch,
3. dem Nährboden,
4. der Züchtungsdauer.

1. Bei Zimmertemperatur wachsen auf den mit den Milchkeimen besäten Platten durchschnittlich ein Drittel mehr Keime aus als bei 37°.

2. Zur Bestimmung des Keimgehaltes in der Milch hat sich eine stärkere Verdünnung und Durchmischung der zu untersuchenden Milchprobe als zweckmäßig erwiesen. Die Verdünnung wählt man etwa so, daß auf der Platte 50—500 Kolonien aufgehen. Für eine keimreiche Marktmilch ist eine Verdünnung $^1/_{5000}$—$^1/_{50\,000}$ zu empfehlen. Bei einer derart starken Verdünnung der zu untersuchenden Milchproben ist aber eine hinlänglich große Menge (0,5 ccm) der verdünnten Milchprobe dem

verflüssigten Nährboden zuzusetzen, damit in den Platten eine hinlängliche Anzahl Kolonien aufgehen.

3. Bezüglich des zur Bestimmung des Keimgehaltes in der Milch zu verwendenden Nährbodens hat sich ergeben, daß die Nährgelatine, welche an sich den Keimen zwar günstige Ernährungsbedingungen bietet, wegen ihrer oft vorzeitigen Verflüssigung jedoch für vorliegenden Zweck nicht geeignet ist. Den Nachteil der Verflüssigung besitzen die Agarnährböden bekanntlich nicht. Der Zusatz von 2prozentigem Glyzerin und Traubenzucker zum Nähragar hat sich nicht als zweckmäßig erwiesen. Bessere Ergebnisse lieferten der gewöhnliche Nähragar, der $4^1/_2$prozentige Milchzuckeragar und der Milchserumagar. Aber auch hier traten noch gewisse Unterschiede hervor.

Insgesamt ist von den je 40 (je 20 bei 37° und Zimmertemperatur) Versuchen

in 7,5 % bei gewöhnlichem Agar,
„ 10 „ „ Milchzuckeragar,
„ 82,5 „ „ Milchserumagar

die Maximalkeimzahl erreicht worden.

Milchserumagar ist demnach als der beste Nährboden zur Keimbestimmung der Milch anzusehen. Das Milchzuckeragar scheint zu den genannten Zwecken etwas besser als gewöhnliches Agar zu sein.

4. Die Zeitdauer, in der alle Keime ausgewachsen sind, ist abhängig:

a) von der Züchtungstemperatur,
b) vom Nährboden,

aber unabhängig vom Grade der Verdünnung.

Bei Bruttemperatur waren die Milchkeime zumeist zwischen dem dritten und fünften Tage, bei Zimmertemperatur zwischen dem vierten und neunten Tage ausgewachsen. Das Milchzucker- und Milchserumagar scheint eine etwas kürzere Dauer zum Auswachsen der Milchkeime zu beanspruchen, als gewöhnliches Agar.

II. Für die praktische Durchführung der Keimbestimmung in der Milch ist folgendes Verfahren zu empfehlen.

1. Die zu untersuchende Milch ist jeweilig um das 10- bis 50fache bis zu $^1/_{50000}$ zu verdünnen und die erhaltenen Proben sind, bevor man sie zu weiteren Verdünnungen und als Zusatz zu den verflüssigten Nährböden benutzt, unter aseptischen Kautelen, unter denen die ganze Bestimmung natürlich durchzuführen ist, gründlich durchzumischen.

2. Bei annähernd bekanntem Keimgehalt wählt man derart verdünnte Milch heraus, welche in einer Menge von 0,5 ccm dem ver-

flüssigten Nährboden zugesetzt, etwa 100—500 Keime auf der Platte aufgehen läßt. Bei keimreicher Marktmilch kommt eine Milchverdünnung $^1/_{50000}$ bezw. $^1/_{5000}$ in Frage. Bei einer Milch von völlig unbekanntem Keimgehalt wählt man eine im Verhältnis $^1/_{50000}$, $^1/_{5000}$ und $^1/_{500}$ bezw. $^1/_{50}$ verdünnte Milch als Zusatz zum Nährboden.

3. Als Nährboden zur Bestimmung des Keimgehaltes in der Milch ist das Milchserumagar zu verwenden. Bezüglich seiner Herstellung sei auf vorstehende Mitteilung verwiesen.

4. Die Kultivierung der Milchkeime in der Platte ist bei Zimmertemperatur durchzuführen.

5. Die Kultivierungsdauer ist auf 7 Tage auszudehnen. Nach dieser Zeit ist die erste Zählung vorzunehmen, welche am nächsten oder übernächsten Tage zu wiederholen ist. Wird bei der Nachzählung derselbe Keimgehalt ermittelt, so kann die Zählung abgebrochen werden, anderenfalls ist sie erst nach weiteren zwei Tagen endgültig zu Ende zu führen.

6. Im allgemeinen genügt es, die Kolonien in den Platten mit unbewaffnetem Auge zu zählen, wobei man, um ein doppeltes Zählen zu vermeiden, die gezählten Kolonien auf der Außenseite der beschickten Petrischale mit Tinte markiert. Es ist zu empfehlen, diese Zählung unter dem Mikroskop zu kontrollieren, wobei der Hessesche Schlittenapparat gute Dienste leistet.

Der Keimgehalt ist auf 1 ccm unverdünnte Milch zu berechnen.

III. Der in der Zeit von Januar bis Mai 1912 beobachtete Keimgehalt in Dresdner Marktmilch schwankte zwischen 1600000 und 186000000, im Mittel betrug er 43200000.

Über die Einwirkung der Atmungschromogene auf die alkoholische Gärung.

Von **W. Palladin** und **Sergius Lvoff.**

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der K. Universität St. Petersburg.)

Palladin und Kraule[1]) und Palladin[2]) haben nachgewiesen, daß die Arbeit des proteolytischen Ferments in abgetöteten Pflanzen durch Oxydationsprozesse stark gehemmt wird. So wurden in an Atmungschromogenen reichen etiolierten Bohnenblättern während der Autolyse in Abwesenheit von Sauerstoff um 122 % mehr Eiweißstoffe abgebaut, als an der Luft. Zu gleichen Resultaten gelangte auch Laqueur[3]) in bezug auf tierische Gewebe.

In der vorliegenden Arbeit haben wir es uns zur Aufgabe gemacht, die Wirkung der durch Atmungschromogene hervorgerufenen Prozesse auf die Zymase festzustellen. Schon bei seinen Untersuchungen über die Atmung durch niedere Temperatur abgetöteter Pflanzen hatte Palladin[4]) eine schädliche Einwirkung seitens der Oxydation der Chromogene auf die Kohlensäuremenge beobachtet, welche von abgetöteten Pflanzen ausgeschieden wird. So wurden von zwei Portionen gefrorener etiolierter Bohnenblätter (100 g) nachstehende Mengen von Kohlensäure ausgeschieden:

Dauer des Versuches	Erste Portion Luftstrom	Zweite Portion Wasserstoffstrom
4 Stunden	126	111
4 „	82	36
15 „	78	36
		Luftstrom
25 „	—	168
15 „	—	77
	286 (— 33 %)	428

[1]) W. Palladin und G. Kraule, Biochem. Zeitschr., Bd. 39, 1912, S. 290.
[2]) W. Palladin, Biochem. Zeitschr., Bd. 44, 1912, S. 318.
[3]) E. Laqueur, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 79, 1912, S. 82.
[4]) W. Palladin, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 47, 1906, S. 407.

Die während des Versuches im Luftstrom befindlichen Blätter haben demnach um 33 % weniger Kohlensäure ausgeschieden, als die Blätter, welche sich zuerst so lange im Wasserstoffstrom befanden, bis die Ausscheidung der Kohlensäure von den anaeroben Prozessen aufgehört hatte, und dann erst Luft erhielten. Bach[1]) beobachtete eine schädliche Einwirkung der Peroxydase auf die alkoholische Gärung.

Bei unseren Versuchen wurde die nach der Methode von Lebedew[2]) abgetötete Hefe in aus den Wurzeln von weißen Zucker- oder Futterrüben oder aber aus Champignons gepreßten Saft gebracht. Bei den meisten Versuchen wurde dem Safte noch Saccharose hinzugefügt. Um den Saft zu gewinnen, wurden die Rüben oder Pilze zuerst in einer Fleischhackmaschine zerkleinert, sodann mit einem schweren Stampfer (bisweilen zusammen mit Sand und Tripel) in einem großen Porzellanmörser zerrieben und endlich in einer Buchnerschen Presse bei 150 Atmosphären Druck ausgepreßt. Da in dem Safte der Rüben und Champignons eine sehr große Menge von Chromogenen enthalten ist, so wird derselbe an der Luft sehr rasch schwarz.

Aus diesem Grunde wurde der ausgepreßte Saft so rasch als möglich in die zum Versuche dienenden Gefäße (Chudjakov-Richter) gegossen und ein Strom von Luft oder Wasserstoff durch dieselben geleitet, welcher sodann durch Pettenkofersche Röhren mit Barytwasser hindurchging, wo die gesamte, während des Versuches ausgeschiedene Kohlensäure absorbiert wurde[3]). Vor den Pettenkoferschen Röhren wurden noch Kolben eingeschaltet, welche je 300 ccm Wasser enthielten, um den Alkohol aufzuhalten, der von dem Gasstrom aus dem Kolben mit der Hefe mitgerissen werden könnte. Über Nacht wurden zwischen diese Kolben und die Pettenkoferschen Röhren noch andere Kolben mit einer bestimmten Menge Barytwasser eingeschaltet. Der Alkohol wurde auf Grund der Erniedrigung des Gefrierpunktes seiner Lösungen im Vergleich zu dem Gefrierpunkt reinen Wassers im Kryoskop von Beckmann[4]) bestimmt. Für die Berechnung gelangte die von Gaunt[5]) auf Grund seiner (speziell mit Alkohol) ausgeführten Analysen auf-

---

1) A. Bach, Berichte d. deutsch. chem. Ges., 1906, S. 1114.

2) A. v. Lebedew, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 73, 1911, S. 447. Diese Hefe wurde von Anton Schröder in München, Landwehrstr. 45, bezogen.

3) W. Palladin und S. Kostytschew, Methoden zur Bestimmung d. Atmung d. Pflanzen. (Abderhalden, Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden, Bd. 3, 1910, S. 479.)

4) W. Ostwald und R. Luther, Hand- und Hilfsbuch z. Ausführung physikochemischer Messungen, 2. Auflage, 1902. E. Buchner und J. Meisenheimer, Berichte d. deutsch. chem. Ges., 1906, S. 3201.

5) R. Gaunt, Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 44, 1905, S. 107.

gestellte Tabelle zur Anwendung. Auf Grund dieser Analysen hatte Gaunt festgestellt, daß bei einer Konzentration des Alkohols von nicht über 5 % des Gewichts, die Erniedrigung des Gefrierpunktes alkoholischer Lösungen seiner Konzentration durchaus proportional ist, und zwar entspricht einem Gewichtsprozent Alkohol eine Erniedrigung des Gefrierpunktes um 0,42°. Die tausendsten Teile eines Grades legen nach seinen Tabellen die Tendenz an den Tag, bei zunehmender Vermehrung des Alkoholgehaltes in der Lösung immer mehr anzuwachsen, weshalb wir uns mit hundertstel Graden begnügt haben, was für unsere Zwecke genügt und die Verwendung des Apparates in beträchtlichem Maße erleichtert.

Nehmen wir sogar an, daß der Fehler bei dem Ablesen auf der Skala des Beckmannschen Thermometers 0,01° erreicht (was als Maximum zu betrachten ist, während bei aufmerksamer Arbeit die Genauigkeit leicht bedeutend erhöht werden kann), so wird auch dann der Fehler bei der Bestimmung des Alkohols während der letzten Destillation von 100 ccm durch die Größe von nur ± 24 mg ausgedrückt sein. Bei den Quantitäten Alkohol, wie wir sie bei unseren Versuchen zu bestimmen hatten, hat ein solcher Fehler keine Bedeutung. Die Destillation des Alkohols und seine Reinigung von Beimischungen erfolgte unter Beachtung aller der von Palladin und Kostytschew[1]) in ihrer Arbeit empfohlenen Vorsichtsmaßregeln.

Wir wollen nunmehr zu der Beschreibung der Versuche übergehen.

Erster Versuch. Am 31. Oktober wurden von 1,4 kg Futterrüben 800 ccm Saft abgepreßt, welcher an der Luft rasch eine dunkle Färbung annahm. Für eine jede Portion wurden 100 ccm Saft verwendet. Zu der ersten Portion wurden nach Kochen des Saftes 15 g Saccharose, 5 g Preßhefe und 2 ccm Toluol hinzugefügt. Luftstrom. Zu der zweiten Portion nicht gekochten Saftes wurden ebenfalls Saccharose und Hefe in den gleichen Quantitäten hinzugegeben. Wasserstoffstrom. Die dritte Portion hatte die gleiche Zusammensetzung wie die zweite. Luftstrom. Zwischen dem Auspressen des Saftes und dem Eingießen in die Versuchsgefäße vergingen 4 Stunden. Während dieser Zeit war der Saft bedeutend dunkler geworden. Im Wasserstoffstrom wurde der Saft während der Gärung rasch wieder farblos. Im Luftstrom wurde der Saft schwarz wie Tinte. Der Saft der gekochten Portion blieb unverändert. Der Versuch wurde bis zur völligen Ausscheidung der Kohlensäure fortgesetzt und endete am 5. November.

---

[1]) W. Palladin und S. Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 48, S. 214.

Erste Portion: Es wurden 465 mg Kohlensäure ausgeschieden.
Letzte Destillation 100 ccm.
Depression 0,17°, was einer Alkoholmenge von 405 mg entspricht.
$CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 87$.

Zweite Portion: Kohlensäure 381 mg.
Letzte Destillation 100 ccm.
Depression 0,15°.
Alkohol 357 mg.
$CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 94$.

Dritte Portion: Kohlensäure 153 mg.
Letzte Destillation 50 ccm.
Depression 0,115°.
Alkohol 138 mg.
$CO_2 : C_2H_5OH = 100 : 90,2$.

Portion	CO_2	C_2H_5OH	$CO_2 : C_2H_5OH$
1. Gekochter Saft. Luft . . .	465	—	100 : 87,0
2. Ungekochter Saft. Wasserstoff .	381	— 18 %	100 : 94,0
3. Ungekochter Saft. Luft . . .	153	— 67 %	100 : 90,2

Durch den Prozeß der Oxydation des Chromogens zu Pigment wird die alkoholische Gärung demnach stark gehemmt.

Zweiter Versuch. Wiederholung des ersten Versuches mit dem Unterschiede, daß der Saft während des Auspressens in ein Glas lief, welches in Schnee stand, und nach dem Auspressen rasch in die Versuchsgefäße verteilt wurde. Aus diesem Grunde konnte der Saft vor dem Beginn des Versuches nicht schwarz werden. Während des Versuches blieb er in der Wasserstoffportion hell und wurde in der Luftportion dunkel, wie bei dem ersten Versuche. Der Versuch dauerte etwa 3 Tage, wobei die Destillation nicht sofort nach dem Einstellen des Versuches, sondern erst am darauffolgenden Morgen vorgenommen wurde. Es ist wohl möglich, daß die Gärung während dieser Zeit noch andauerte, wenn auch in unbedeutendem Maße, wodurch das verhältnismäßig hohe Verhältnis des Alkohols zur Kohlensäure erklärt werden könnte.

Portion	CO_2		Depression	C_2H_5OH		$CO_2 : C_2H_5OH$
1. Gekochter Saft. Luft . .	502	—	0,21°	500	—	100 : 99,6
2. Ungekochter Saft. Wasserstoff	561,6	+ 11 %	0,25°	595	+ 19 %	100 : 106,0
3. Ungekochter Saft. Luft .	251,2	— 50 %	0,11°	262	— 48 %	100 : 104,0

Auch bei diesem Versuche war die Pigmentbildung von einer heftigen Hemmung der alkoholischen Gärung begleitet.

Die Wasserstoffportionen ergaben verschiedene Resultate. Bei dem ersten Versuche war der Saft beträchtlich schwarz geworden. Das zur Bildung gelangte Pigment übte auch im Wasserstoffstrome eine wenn auch unbedeutende giftige Wirkung aus. Bei dem zweiten Versuche dagegen war der Saft farblos und in der Wasserstoffportion wurde eine stärkere Gärung festgestellt, als in der Kontrollportion mit abgekochtem Saft. Das Chromogen und die Peroxydase üben demnach keinerlei Wirkung auf die alkoholische Gärung aus. Es ist schwer zu sagen, wodurch die etwas verstärkte Gärung der Wasserstoffportion, wenn dieses Plus innerhalb der Grenzen des Versuchsfehlers bleibt, zu erklären ist. Es ist sehr wohl möglich, daß die das Material für die Hefe vorbereitenden Fermente durch das Abkochen getötet worden sind. Ebenso ist es möglich, daß der Sauerstoff auch in dem abgekochten Safte eine geringfügige Bildung von Pigment hervorruft.

Dritter Versuch. Saft von weißen Zuckerrüben. Drei Portionen. 1. 100 ccm Saft. Wasserstoffstrom. 2. 100 ccm Saft. Luftstrom. 3. 100 ccm Wasser + 15 g Saccharose + 5 g Hefe. In allen Portionen je 2 g Toluol.

Kohlensäuremengen:

Erste Portion	48,9 mg,
zweite Portion	35,5 mg (— 28 %),
dritte Portion	58,0 mg.

Auf die Selbstgärung des Saftes übt der Sauerstoff demnach eine schädliche Wirkung aus.

Vierter Versuch. Saft weißer Zuckerrüben. Aus Zuckerrüben erhält man doppelt soviel Saft wie aus Futterrüben. Der Saft ist dickflüssig. Zwei Portionen zu 100 ccm Saft, 10 g Saccharose, 5 g Hefe und 2 ccm Toluol. Die erste Portion im Wasserstoffstrom, die zweite im Luftstrom. Die dritte Portion wurde um zwei Tage früher ausgepreßt. 100 g Saft mit 2 ccm Toluol verblieben 44 Stunden im Luftstrome und erst dann wurden dem schwarz gewordenen Saft 10 g Saccharose und 5 g Hefe hinzugefügt. Nach Beendigung des Versuches war die helle Färbung im Wasserstoffstrome fast unverändert geblieben. Es ist zu bemerken, daß bei allen Versuchen im Luftstrome während der Periode der intensivsten Gärung ein verschieden starkes Hellerwerden des Saftes beobachtet wird, welcher hierauf gegen das Ende des Versuches zu rasch schwarz wird.

Die Ergebnisse dieses Versuches sind in nachstehender Tabelle zusammengestellt:

	Zahl der Stunden	1. Nicht oxydierter Saft Wasserstoff		2. Nicht oxydierter Saft Luft		3. Oxydierter Saft Luft	
		CO_2 in mg	CO_2 in 1 Stunde	CO_2 in mg	CO_2 in 1 Stunde	CO_2 in mg	CO_2 in 1 Stunde
Ohne Hefe	44	—	—	—	—	37,0	0,8
Mit Hefe	2,5	73,0	29,2	63,3	25,3	35,7	14,3
	2,0	98,0	49,0	79,7	39,9	49,7	24,9
	2,0	79,7	39,9	78,7	39,3	29,3	14,7
	17,0	396,8	23,3	341,2	20,1	58,7	3,5
	2,0	41,4	20,7	37,7	18,9	4,6	2,3
	2,0	30,3	15,1	35,3	17,6	4,4	2,2
	20,0	90,9	4,5	76,0	3,8	36,1	1,8
	8,0	32,7	4,1	20,7	2,6	6,7	0,8
	17,0	35,0	2,0	15,0	0,9	9,7	0,6
	23,0	14,0	0,6	9,7	0,4	5,3	0,2
	26,0	11,3	0,4	8,0	0,3	3,7	0,1
Summe	121,5	903,1		765,3 (— 16 %)		280,9 (— 69 %)	
Depression		0,36°		0,30°		0,11°	
Alkohol in mg		857		714 (— 17 %)		262 (— 70 %)	
$CO_2 : C_2H_5OH$		100 : 95		100 : 93		100 : 93	

Aus dem Versuche ist zu ersehen, daß die alkoholische Gärung durch das Hindurchströmenlassen von Luft durch den Saft nur in geringem Maße herabgesetzt wird. Diese Tatsache läßt sich daraus erklären, daß wegen des im Vergleich zu der Futterrübe hohen Saccharosegehaltes der Zuckerrübe, der Abbau des Prochromogens in derselben bedeutend langsamer vor sich geht. Palladin[1]) hat nachgewiesen, daß die Saccharose den Abbau der Prochromogene in bedeutendem Maße aufhält. Wurde nun der Saft zuvor oxydiert und die Hefe erst nach 44 Stunden eingeführt, so war auch in diesem Versuche eine starke Hemmung der alkoholischen Gärung zu beobachten.

Bei allen Versuchen konnte festgestellt werden, daß beide Produkte der alkoholischen Gärung gehemmt werden: je geringer die Quantität der Kohlensäure wird, um so geringer wird auch die Quantität Alkohol.

Fünfter Versuch. Zur Hälfte mit Wasser verdünnter Saft von Zuckerrüben. Zwei Portionen zu je 100 ccm verdünnten Saftes mit 2 ccm Toluol. Durch die erste Portion ein Wasserstoffstrom, durch die zweite ein Luftstrom, im Verlaufe von 20 Stunden. Hierauf wurde beiden Portionen je 5 g Hefe hinzugefügt.

[1]) W. Palladin, Berichte botan. Ges., 1909.

	Stunden	1. Saft in Wasserstoff		2. Saft in Luft	
		CO_2 in mg	CO_2 in 1 Stunde	CO_2 in mg	CO_2 in 1 Stunde
Ohne Hefe .	20	11,3	0,6	11,7	0,6
Mit Hefe . .	3,5	87,3	24,9	91,0	26,0
	20,0	420,0	21,0	420,0	21,0
	75,0	254,8	3,4	106,8	1,4
Im ganzen	118,5	773,4		629,5 (—19 %)	
Depression		0,31°		0,25°	
Alkohol in mg		738		595 (— 20 %)	
$CO_2 : C_2H_5OH$		100 : 95		100 : 94,5	

Sechster Versuch. Saft aus Champignons, welcher an der Luft rasch dunkel wurde. Drei Portionen zu je 100 ccm mit 2 ccm Toluol. Der ersten Portion wurden sofort 15 g Saccharose und 5 g Hefe hinzugefügt und ein Luftstrom hindurch gelassen. Durch die zweite Portion wurde einen Tag lang ein Luftstrom und durch die dritte ein Wasserstoffstrom hindurch gelassen. Hierauf wurde in beide Portionen Saccharose und Hefe hinzugetan. Die dunkle Färbung der Wasserstoffportion blieb während des Hindurchlassens des Wasserstoffes bis zum Hinzufügen der Hefe unverändert. Nach dem Hinzufügen der Hefe jedoch wurde der Saft bedeutend heller. Auch der Saft der Luftportion wurde anfangs nach dem Hinzutun von Hefe heller, nahm aber dann wiederum seine schwarze Färbung an.

	Zahl der Stunden	1. Frischer Saft. Luft		Zahl der Stunden	2. Saft nach eintägiger Autolyse im Luftstrom. Luft		3. Saft nach eintägiger Autolyse im Wasserstoffstrom. Wasserstoffstrom	
		CO_2 in mg	CO_2 in 1 Stunde		CO_2 in mg	CO_2 in 1 Stunde	CO_2 in mg	CO_2 in 1 Stunde
Ohne Hefe .	—	—	—	24,0	47,3	1,9	35,0	1,5
Mit Hefe . .	2	147,0	73,5	1,5	36,0	24,0	51,7	34,5
	1	103,7	103,7	2,0	51,5	25,7	58,3	29,1
	22	107,1	48,7	2,0	147,7	73,9	153,0	76,5
	9	208,3	23,1	5,0	275,0	55,0	350,0	70,0
	62	69,3	1,1	12,5	265,8	21,3	426,0	34,1
	—	—	—	50,0	66,7	1,3	108,3	2,2
Im ganzen	96	1599,3		97	889,8 (— 45 %)		1182,3 (— 27 %)	
Depression		0,55°			0,32°		0,45°	
Alkohol in mg . .		1309			762,0 (— 42 %)		1071 (— 19 %)	
$CO_2 : C_2H_5OH$ . .		100 : 82			100 : 86		100 : 90,6	

Aus diesem Versuche geht hervor, daß die vorherige Oxydation des Champignonsaftes im Verlaufe von 24 Stunden die alkoholische Gärung stark aufgehalten hat.

Außerdem stellte es sich ganz unerwarteterweise heraus, daß der Saft, durch welchen 24 Stunden hindurch ein Wasserstoffstrom geleitet und dem erst hierauf Hefe hinzugefügt wurde, trotz des noch weiter andauernden Wasserstoffstromes die alkoholische Gärung mehr aufhielt, als der Saft, welchem sofort Hefe hinzugefügt und ein Luftstrom durchgeleitet wurde. Es läßt sich dieses Verhalten nur in der Weise erklären, daß während der Autolyse, außer Substanzen, welche als Material für die Gärung dienen können (zweiter Versuch), auch noch solche Stoffe zur Bildung gelangen können, welche schädlich auf die alkoholische Gärung einwirken. Wahrscheinlich infolge seiner vorhergehenden Autolyse wurde auch im fünften Versuche ein geringer Unterschied zwischen der Luft- und der Wasserstoffportion festgestellt. Da nun der Champignonsaft, wie von Kostytschew[1]) nachgewiesen wurde, beträchtliche Mengen von Kohlensäure ohne gleichzeitige Bildung von Alkohol ausscheidet, so erhalten wir auch bei diesem Versuche höhere Verhältnisse der Kohlensäure zum Alkohol, als dies in allen vorhergehenden Versuchen der Fall war.

Die oben beschriebenen Versuche führen zu nachstehenden Ergebnissen:

1. Die Vergärung des aus Pflanzen ausgepreßten Saftes mit abgetöteter Hefe im Luftstrom ist von einer Oxydation des im Saft enthaltenen Atmungschromogens zu Pigment begleitet, welche die Arbeit der Zymase stark beeinträchtigt. Eine besonders starke Herabsetzung der alkoholischen Gärung wird in dem Falle beobachtet, wenn der Saft noch vor der Einführung der Hefe oxydiert wird.

In abgekochtem Safte, welcher nicht mehr imstande ist, Prochromogen in Chromogen überzuführen und letzteres zu Pigment zu oxydieren, geht eine energische alkoholische Gärung vor sich.

2. Bei der Vergärung ungekochten Saftes mit abgetöteter Hefe im Wasserstoffstrom, wo eine Oxydierung des Chromogens zu Pigment nicht möglich ist, wird eine Hemmung der alkoholichen Gärung nicht beobachtet. Für die alkoholische Gärung erweist sich demnach das bei der Oxydation der Chromogene zur Bildung gelangende Pigment als schädlich. Das Chromogen und die Peroxydase üben dagegen in Abwesenheit von Sauerstoff keinen merkbaren schädlichen Einfluß aus.

---

[1]) S. Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 65, 1910, S. 350.

3. Die Hemmung der alkoholischen Gärung durch die Oxydationsprodukte der Atmungschromogene macht sich in gleicher Weise bei der Kohlensäure, wie auch bei dem Alkohol bemerkbar. Das Verhältnis der Kohlensäure zum Alkohol in durch Pigmente vergifteten Portionen bleibt annähernd das gleiche wie in den Kontrollportionen.

4. Eine ähnliche Hemmung der primären anaeroben Reaktionen der Atmung durch oxydierende Reaktionen des aeroben Stadiums hat Palladin auch während der Atmung abgetöteter Pflanzen beobachtet. Derartige Tatsachen erweisen sich als besonders instruktive Beispiele dafür, wie nach dem Abtöten der Pflanzen die zweckmäßige Arbeit der Fermente beeinträchtigt wird und das eine Ferment die Arbeit eines anderen zu vergiften beginnt.

5. Um das Wesen der schädlichen Einwirkung von Oxydationsprodukten der Atmungschromogene auf die alkoholische Gärung festzustellen, wird man folgende Erscheinungen in Betracht ziehen müssen. Erstens geht aus den neuesten Untersuchungen über die alkoholische Gärung hervor, daß der Alkohol kein unmittelbares Produkt des Abbaues der Glykose darstellt. Es werden zuerst unbeständige Zwischensubstanzen gebildet, aus denen sodann auf synthetischem Wege der Alkohol hervorgeht. Wie der aus tierischen Organismen ausgeschiedene Harnstoff nicht nur ein Zerfallsprodukt, sondern auch das Ergebnis von auf den Abbau folgenden synthetischen Reaktionen darstellt, ebenso ist auch der durch Hefe gebildete Alkohol das Ergebnis synthetischer Reaktionen. Zweitens ist der Abbau der Glykose nach Palladin[1]) das Ergebnis ihrer Oxydation auf Kosten des Wassers. Der bei diesem Prozeß gebildete Sauerstoff wird während der normalen Atmung unter Beihilfe der Atmungschromogene zu Wasser oxydiert ($R + H_2 = RH_2$; $RH_2 + O = R + H_2O$), wie in den Versuchen von Wieland[2]) bei der hydrolytischen Oxydation von Aldehyden der Wasserstoff durch chinoide Verbindungen weggenommen wird.

Der während der Atmung in Gestalt von Wasser mit Hilfe der Chromogene entfernte Wasserstoff wird bei der alkoholischen Gärung in Gestalt von Äthylalkohol entfernt. Die Bildung von Zwischenprodukten (Azetaldehyd nach K. Neuberg und Kostytschew) bei der alkoholischen Gärung muß, wie dies von Kostytschew[3]) nachgewiesen wurde, von einer Wasserstoffentnahme begleitet sein. Dieser Wasser-

[1]) W. Palladin, Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. 1, 1912, S. 91.

[2]) H. Wieland, Berichte d. deutsch. chem. Ges., Bd. 45, 1912, S. 2606.

[3]) S. Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 83, 1913, S. 93.

stoff lagert sich bei dem synthetischen Prozeß der Alkoholbildung wieder an.

Auf Grund der dargelegten Erscheinungen ist die Annahme sehr wahrscheinlich, daß die Hemmung der alhoholischen Gärung durch Oxydationsprodukte der Atmungschromogene darin besteht, daß die Pigmente den während der Bildung der Zwischenprodukte der alkoholischen Gärung zur Bildung gelangenden Wasserstoff an sich nehmen und denselben durch den Sauerstoff der Luft zu Wasser oxydieren. Aus diesem Grunde wird bei Abwesenheit des zur Bildung von Alkohol erforderlichen Wasserstoffes ersterer auch nicht gebildet.

Um entscheiden zu können, ob die von uns ausgesprochene Annahme von dem Chemismus der Vergiftung der alkoholischen Gärung richtig ist, wie auch um durch Entnahme der während der Zwischenreaktionen der alkoholischen Gärung freiwerdenden Wasserstoffes den Chemismus dieser letzteren aufzuklären, hat einer von uns (Lvoff) es unternommen, die hier beschriebenen Versuche weiter zu führen, wobei er den Saft mit Atmungschromogenen wegen der Kompliziertheit der in demselben vor sich gehenden Reaktionen durch wässerige Lösungen von Methylenblau und anderen ähnlichen Stoffen ersetzte. Die Wasserstoffentnahme mit Hilfe von Methylenblau erfolgt nach dem einfachen Schema $R + H_2 = RH_2$. Bei der Oxydation der Chromogene dagegen verlaufen die Reaktionen viel komplizierter und dazu noch in abgetöteten Pflanzen anders als in lebenden. Nehmen wir z. B. den sehr einfachen Fall der Oxydation von Hydrochinon zu Chinon. Es bleibt hier nicht bei der Gleichung: $C_6H_4(OH)_2 + O_2 = C_6H_4O_2 + H_2O$. Es tritt hier nebenbei noch die Reaktion der Chinhydronbildung infolge der Verbindung des Chinons mit dem Hydrochinon ein: $C_6H_4O_2 \cdot C_6H_4(OH)_2$. Verläuft die Reaktion in Anwesenheit von fremden Stoffen, so kann das sich bildende Chinon eine ganze Reihe verschiedener Chinhydrone ergeben. So entsteht mit Resorcin Resorcinchinhydron: $C_6H_4O_2 \cdot C_6H_4(OH)_2$. Ähnliche Nebenstoffe werden bei der Oxydation von Chromogenen in abgetöteten Pflanzen gebildet, in deren Zellen verschiedene Substanzen in Gestalt einer homogenen Mischung mit gemeinsamer saurer Reaktion auftreten. In der lebenden Zelle befinden sich im Gegensatz hierzu die einen Stoffe im alkalischen Protoplasma, die anderen im sauren Zellsaft usw. Das in Indigopflanzen enthaltene Indoxyl gibt in den lebenden Pflanzen kein Indigo. Est nach der Abtötung dieser Pflanzen entstehen auf Kosten des Indoxyls sehr verschiedenartige Pigmente. Das am meisten verbreitete derselben, der Indigo, bildet sich infolge der Verbindung zweier Molekeln des Indoxyls miteinander. Allein das Indoxyl

kann sich auch mit anderen in der Zelle befindlichen Substanzen, z. B. mit Isatin vereinigen und andere Farbstoffe ergeben[1]).

Es ist endlich sehr wohl möglich, daß die Bildung von Pigmenten in abgetöteten Pflanzen nicht nur von einer Anlagerung des Wasserstoffes begleitet wird, sondern außerdem noch von einer Sauerstoffabgabe, was nach den neuesten Untersuchungen bei der Verwandlung des blauen Indigos in weißen der Fall ist. „Die Verküpung beruht nicht auf Hydrogenisation des Indigoblaus zu Indigoweiß, sondern auf Desoxydation des Natron-Indigos oder Kalk-Indigos und verläuft in zwei Phasen“[2]):

$$C_{16}H_{10}N_2O_2 + NaOH = C_{16}H_{10}N_2O_2 \cdot NaOH$$
$$C_{16}H_{10}N_2O_2 \cdot NaOH + Zn = C_{16}H_{11}NaN_2O_2 + ZnO.$$

Das aus etiolierten Bohnenstengeln ausgeschiedene Chromogen wird durch Peroxydase und H_2O_2 zu schönem roten Pigment oxydiert, welches ziemlich lange Zeit hindurch unverändert bleibt. Bei der Autooxydation dieses Chromogens in abgetöteten Pflanzen entstehen dagegen schwarze Pigmente[3]).

6. A. v. Bayer[4]) hat nachgewiesen, daß das Indoxyl sich unter Bildung von Pigmenten mit Brenztraubensäure und Essigaldehyd verbinden kann, d. h. mit Stoffen, welche als Zwischenprodukte der alkoholischen Gärung angesehen werden. Sind auch andere Chromogene zu solchen Reaktionen befähigt, so würde die Vergiftung der alkoholischen Gärung in solchen Fällen nicht nur von der Wasserstoffentnahme, sondern auch noch von der Beseitigung einiger Zwischenprodukte der alkoholischen Gärung aus der Kette der Reaktionen abhängig sein.

7. Auch die Produkte der Autolyse des Saftes können, selbst in Abwesenheit von Sauerstoff, einen schädlichen Einfluß auf die alkoholische Gärung ausüben (sechster Versuch).

8. Palladin und Kostytschew[5]) fanden während des Studiums der Alkoholbildung bei durch niedere Temperaturen abgetöteten Pflanzen, daß einige Pflanzen nach ihrer Abtötung große Mengen von Alkohol bilden. Das Verhältnis $CO_2 : C_2H_5OH$ entspricht der typischen alkoholischen Gärung. Es läßt sich dies an Pflanzen beobachten, welche arm an Chromogenen sind, so z. B. bei Erbsensamen. Lebende Erbsen-

---

[1]) A. v. Bayer, Berichte d. deutsch. chem. Ges., Bd. 14, 1881, S. 1741.

[2]) A. Binz und Schädel, Berichte d. deutsch. chem. Ges., Bd. 45, 1912, S. 590.

[3]) W. Palladin und Tolstaja, Biochem. Zeitschrift, 1913 (im Druck).

[4]) A. v. Bayer, Berichte d. deutsch. chem. Ges., Bd. 16, 1883, S. 2188.

[5]) W. Palladin und S. Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 48, 1906, S. 214.

samen bilden Alkohol nur in einer sauerstofffreien Atmosphäre. Abgetötete Erbsensamen dagegen bilden Alkohol auch an der Luft, und dies in größeren Quantitäten, als ohne Sauerstoff. Andere Pflanzen dagegen scheiden nach ihrer Abtötung bedeutende Mengen von Kohlensäure aus, bilden aber entweder gar keinen oder nur unbedeutende Mengen von Alkohol. Dies läßt sich an chromogenreichen Pflanzen beobachten. Es ist sehr wohl möglich, daß die leicht reagierenden Zwischenprodukte der alkoholischen Gärung bei diesen Pflanzen mit irgend welchen Substanzen des Oxydationsapparates in Verbindung treten und aus diesem Grunde keinen Alkohol geben können. Kostytschew, Hübbenet und Scheloumow[1]) haben gefunden, daß sogar die sehr chromogenreichen lebenden Blüten der Pappel in einer sauerstofffreien Atmosphäre keine typische alkoholische Gärung ergeben, indem sie außer Alkohol auch noch beträchtliche Mengen von Azetaldehyd bilden. Die Verfasser erklären diese Tatsache ganz richtig dadurch, daß die Chromogene die Reduktion des Essigaldehyds zu Äthylalkohol aufhalten.

9. Für die Praxis der Weinproduktion gibt die vorliegende Arbeit Hinweise darauf, daß die Alkoholmenge und die Bildung von Nebenprodukten der alkoholischen Gärung nicht nur von der Hefe, sondern auch von dem der Gärung unterworfenen Material abhängt. Parallel der Arbeit der Hefe arbeiten in dem zu vergärenden Safte auch dessen eigene Fermente. Von der gegenseitigen Einwirkung, welche die von den Fermenten des Saftes hervorgebrachten Produkte und die von den Fermenten der Hefe hervorgebrachten Produkte aufeinander ausüben, können nicht nur Stoffe resultieren, welche die Bildung von Alkohol aufhalten (und dies namentlich in Gegenwart von Sauerstoff), sondern auch solche Stoffe, durch welche Farbe, Aroma und Geschmack des zu gewinnenden Weines bedingt werden. Wie mannigfaltig die Wirkung der Fermente (die stimulierende wie die unterdrückende) sein kann, zeigt uns die Arbeit von Lvoff[2]) über die Einwirkung des Emulsins und der Diastase auf die alkoholische Gärung.

[1]) S. Kostytschew, E. Hübbenet und A. Scheloumow, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 83, 1913, S. 105.

[2]) S. Lvoff, Zeitschr. f. Gärungsphysiologie, Bd. 1, 1912, S. 19.

Literaturliste
der im 1. Halbjahre 1912 erschienenen Arbeiten auf dem Gebiete der Mykologie der Gebrauchs- und Abwässer.

Von Dr. **Arno Müller.**

Abwasserschlammes. Die Behandlung des —. Das Wasser, 1912, 8, Nr. 6, S. 175.

Aufhäuser. Das Wasser im Lichte der neueren Theorien mit besonderer Berücksichtigung des Dampfkesselbetriebes. Zeitschr. f. öffentl. Chemie 18, S. 161.

Aumann. Über den Wert der direkten Zählung der Wasserbakterien mittels des Ultramikroskops. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 1912, **33**, S. 624.

Bach. „Frisches" und „fauliges" Abwasser. Techn. Gemeindeblatt 1912, Jahrg. 15, Nr. 3, S. 33.

Balfour, A. The water supply of towns in the tropics, chiefly from the bacteriological standpoint, as illustrated by the water supply of Khartoum. Journ. of trop. Med. and Hyg. 1911, Nr. 17, S. 285.

Basch. Ein Beitrag zur Frage der Abwasserreinigung durch Salpeterzusatz. Gesundheits-Ingenieur 1912, **35**, Nr. 17, S. 341.

—, **E.** Speisewasserreinigung und Permutitverfahren. Chemiker-Ztg. 1912, Jahrgang XXXVI, Nr. 81, S. 769.

Beasley, E. An investigation on the permeability of slow sand filters to Bacillus typhosus. Journ. of med. Research, Vol. 25, 1911, S. 101. Ref. Centralbl. f. Bakt. 1912, I. Abt., Ref., **51**, S. 13.

Borgwald, Fr. Über Grundwasserbewegung und Berechnung von Brunnen-Ergiebigkeiten. Das Wasser 1912, 8, Nr. 5, S. 143.

Bertel, R. Sur la distribution quantitative des Bactéries planctoniques des côtes de Monaco. Bull. Inst. océanogr. Monaco 1912, S. 12.

Black, W. M. and **Phelps, E. B.** The Discharge of Sewage into New York Harbour. Contributions from the Sanitary Research Laboratory and the Sewage Experiment Station, 1911, Vol. VII, Massachusetts Institute of Technology, Boston. Ref. Gesundheits-Ing. 1912, **35**, Nr. 18, S. 369.

Bodin, E. Stabulation des huîtres dans l'eau de mer artificielle filtrée. Compt. Rend. de l'Acad. d. Sciences 1912, T. CLIV, S. 446.

Bogodarow, P. J. Chemisch-biologische Klärungsmethoden der Färbereiabwässer. Zeitschr. f. Farbenindustrie **11**, S. 161. Ref. Chem. Zentralbl. 1912, **2**, Nr. 9, S. 766.

Bonjean, E. Behandlung der zur öffentlichen Trinkwasserversorgung dienenden Wässer mit Alkalihypochlorit (Javellisation). Bull. d. Sciences Pharmacol. **19**, S. 262. Ref. Chem. Zentralbl. 1912, **2**, Nr. 5, S. 373.

— Essais institués par la Ville de Marseille pour l'épuration des eaux du canal testinées à l'alimentation publique. La technique sanit. el municipale 1911, Jahrg. 6, S. 173.

Braungard, K. Über Wasserreinigung und Kesselsteinbekämpfung. Chemiker-Ztg. 1912, Jahrg. XXXVI, Nr. 56, S. 521.

Bruns, H. Über die Desinfektion des Trinkwassers in Wasserleitungen durch Chlorkalk. Journ. f. Gasbel. u. Wasservers. 1912, **55**, S. 649.

Calcium Hypochlorite, Disinfecting Lake Water with. Engineering Record 1912, **65**, Nr. 13, S. 360.

Calmette, A., Rolants, E., Boullanger, E. et **Constant, F.** Recherches sur l'épuration biologique et chimique des eaux d'égoût. 7. Vol. Paris, Masson 1912.

Clark, H. W. and **Adams, G. O.** A Study of Carbon in Sewage and Sewage Purification. Journal of Industrial and Engineering Chemistry 1911, Vol. 3, Nr. 10. Ref. Gesundheits-Ingenieur 1912, **35**, Nr. 23, S. 489.

Clarke, R. W. Die Bestimmung der Menge von gelöstem Sauerstoff, die von nitrithaltigem Sielwasser absorbiert wird, und des Gehaltes an Nitriten in Sielwässern und Wasser. Analyst, **36**, S. 393. Ref. Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genußmittel 1912, **23**, S. 301.

Clement, L. Notiz über die Abscheidung von Fett aus Abwasser. Chem. News **106**, S. 62. Ref. Chem. Zentralbl. 1912, **2**, Nr. 10, S. 877.

Coales. The Burning of Sewage Sludge. The Surveyor and Municip. and County Engineer. 1912, **41**, Nr. 1046, S. 214.

Contact and Trickling Filters, Stability of Effluents from. Engineering Record 1912, **65**, Nr. 10, S. 265.

— Beds, Experiments with. Engineering Record 1912, **65**, Nr. 2, S. 35.

Copeland, William R. and **Hoover, Ch. P.** The interpretation of tests for B. coli communis. Journ. of infect. Diseases, Vol. IX, Nr. 3, S. 343. Ref. Centralbl. f. Bakt. 1912, I. Abt., Ref., **52**, S. 281.

Curupi, C. Die bakterielle Untersuchung der Dorner Heilquellen. Ein Beitrag zur Kenntnis der Wasserbakterienflora. Zeitschr. f. Balneologie 1912, Jahrg. 4, Nr. 4, S. 567.

Darnall, C. R. The purification of water by anhydrous chlorine. Journ. American publ. health assoc., Vol. 1, S. 783.

Dieffenbach, H. und **Sachse, R.** Biologische Untersuchungen an Rädertieren in Teichgewässern. Intern. Revue d. ges. Hydrobiologie u. Hydrographie 1912, Biolog. Suppl., III. Serie, Heft 3, S. 1.

Droste. Über ein Leitungswasser mit einem sehr hohen Gehalt an löslichem Eisen und wechselnden Mengen Ammoniak usw. Chemiker-Ztg. 1912, Jahrg. XXXVI, Nr. 72, S. 678.

Dserschgowsky, S. Zur Frage nach der Desinfektion des Leitungsnetzes und des Trinkwassers mit Chlor. Versuch zur Anwendung von Chlorkalk zu einer solchen in Rostoff a. D. Rußky Wratsch. 1911, Nr. 41, S. 1574. Ref. Centralbl. f. Bakt. 1912, I. Abt., Ref., **51**, S. 615.

Dünkelberg. Kali-Endlaugen und Wasserversorgung. Das Wasser 1912, 8, Nr. 6, S. 177.

Dunbar. Zum gegenwärtigen Stande der Oberflächenwasserversorgung. Gesundheits-Ingenieur 1912, **35**, Nr. 10, S. 185 und Nr. 11, S. 220.

Eberts. Die Kaliindustrie im Werratale und ihr Einfluß auf die Fischerei. Allgemeine Fischereizeitung 1912, Nr. 8 u. 9, S. 198 u. 225.

— Erfahrungen über den Einfluß der Talsperren auf die Fischerei. Allgemeine Fischereizeitung 1912, Nr. 12, S. 310.

Eisenhaltiger Abwässer, Schädlichkeit. Allgemeine Fischereizeitung 1912, Nr. 7, S. 189.

Elbe, Die Verunreinigung der. Allgemeine Fischereizeitung 1912, Nr. 10, S. 269.

Electrolytic Disinfectant. The Surveyor and Municip. and County Engineer 1912, Vol. XLI, Nr. 1065, S. 853.

Elektrische Trinkwasserreinigung. Die Heilanstalt 1912, Jahrg. 7, Nr. 8, S. 120.

Elwin, H. T. N. Sewage Works and Street Gullies as Breeding Grounds of Mosquitoes. The Surveyor and Municip. and County Engineer 1912, Vol. XLI, Nr. 1052, S. 434.

Enteisenung und Reinigung von Wasser durch Filter „Rheingold". Gesundheits-Ing. 1912, **35**, Nr. 7, S. 132.

Enteisenungsanlage, Wasser- „Edelbrunn". Gesundheits-Ing. 1912, **35**, Nr. 4, S. 66.

Enteisenungsapparat mit wiederholter Belüftung und Filtration. Das Wasser 1912, Jahrg. 8, Nr. 1, S. 8.

Erlwein, G. Die Reinigung des Trinkwassers von Bakterien mittels Ozon und ultravioletter Strahlen. Hygien. Rundschau 1912, Nr. 9, S. 65.

Fabre-Domergue, Epuration bactérienne des huîtres par la stabulation en eau de mer artificielle filtrée. Compt. Rend. de l'Acad. d. Sciences 1912, T. CLIV, S. 393.

— Nouvelles experiences sur l'épuration bactériologique des huîtres en eau filtrée. Compt. Rend. de l'Acad. des Sciences 1912, T. 154, Nr. 19, S. 1257.

Fehlmann, J. W. Die Tiefenfauna des Luganer Sees. Intern. Revue d. gesamten Hydrobiologie u. Hydrographie 1912, Biolog. Suppl., IV. Serie, Heft 1, S. 1.

Filter Sands, Incrustations of. Engineering Record 1912, **65**, Nr. 11, S. 305.

Filtering Material, A New. The Surveyor and Municip. and County Engineer 1912, Vol. XLI, Nr. 1058, S. 616 u. 626.

Filtration, The Rapid Mechanical — Plant of the Montreal Water u. Power Company. Engineering Record 1912, **65**, Nr. 10, S. 260.

Fish Life and Road Tarring, The Surveyor and Municip. and County Engineer 1912, Vol. XLI, Nr. 1061, S. 719 u. 737; Nr. 1062, S. 767.

Fowler, G. J., Ardern, E. and **Lockett, W. F.** Die Verwendung der Ablaugen von Ammoniumsulfatfabriken zur Abwasserreinigung. Journ. Soc. Chem. Ind. 1912, **31**, S. 471. Ref. Chemiker-Ztg. 1912, Jahrg. XXXVI, Nr. 75, Chem.-Technisches Repertorium, S. 357.

— — — Die bakterielle Reinigung des Ammoniakwassers. Journ. Soc. Chem. Ind. **30**, S. 174. Ref. Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genußmittel, 1912, **23**, S. 298.

— und **Holton, A. L.** Versuche über die bakterielle Reinigung des Ammoniakwassers bei den Gaswerken der Stadt Manchester. Journ. Soc. Chem. Ind. **30**, S. 180. Ref. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel 1912, **23**, S. 299.

— und **Shepherd, St. W.** Versuche über die bakterielle Reinigung des Ammoniakwassers bei den chemischen Werken der Stadt Bradford. Journ. Soc. Chem. Ind. **30**, S. 181. Ref. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel, 1912, **23**, S. 299.

Fuller, G. W. Sewage Disposal. New York, Mc Graw-Hill Book Company.

Gärtner. Der heutige Stand der Wasserversorgungsfrage. Der Straßenbau 1912, **3**, S. 36.

— Über Infektionen mit Typhus durch Quellen. Centralbl. f. Bakt. 1912, I. Abt., Orig., **64**, Festschrift für F. Löffler, S. 214.

Galtzoff, P. Zur Kenntnis der biologischen Faktoren der Binnengewässer. Biolog. Zentralbl. 1912, **32**, Nr. 5, S. 325.

Gazert, H. Untersuchungen über Meeresbakterien und ihren Einfluß auf den Stoffwechsel im Meere. Deutsche Südpol.-Exp. 1912, S. 66.

Gebhard, F. Verfahren zur Geruchlosmachung und gewerblichen Verwertung von Kanalisationssinkstoffen, wie Fäkalien, Abwasserschlamm. Patentschrift Nr. 249936.

Grimm. Über die Desinfektion von Trinkwasser mit Chlorkalk. Mitteilungen aus d. Kgl. Prüfungsanst. f. Wasserversorgung u. Abwässerbeseitigung zu Berlin 1912, Heft 16, S. 297.

Großmann. Sewage Sludge and its Disposal. The Surveyor and Municip. and County Engineer 1912, Vol. XLI, Nr. 1050, S. 358.

Guth, F. Kanalisation und Abwasserreinigungsanlagen des Entwässerungsverbandes der Landgemeinden Stellingen-Langenfelde, Lockstedt, Eidelstedt und Niendorf. Gesundheits-Ing. 1912, **35**, Nr. 13, S. 264.

— und **Feigl, J.** Über den Nachweis und die Wirkung von Fermenten im Abwasser. Gesundheits-Ing. 1912, **35**, Nr. 2, S. 21.

— und **Keim, P.** Die Bedeutung der Nitrate für die Behandlung von Abwasser und Schlamm. Gesundheits-Ing. 1912, **35**, Nr. 4, S. 57.

Haas. Der Karpfenteich am Schlachthof. Allgem. Fischereiztg, 1912, Nr. 3, S. 68.

Hall, G. N. The occurrence of a supposed undescribed coliform organism in drinking water. Journ. of the Roy. Instit. of public Health, Vol. XIX, Nr. 6, S. 359. Ref. Centralbl. f. Bakt. 1912, I. Abt., Ref., **52**, S. 271.

Haller. Trinkwasser-Reinigungsexperimente in Brisbane, Queensland (Australien). Gesundheit 1912, Jahrg. 37, Nr. 2, S. 41.

Hamor, W. A. Die Reinigung und das Weichmachen von Wasser mittels Permutit. Journ. of Ind. and Engin. Chem. **4**, S. 240. Ref. Chem. Zentralbl. 1912, **2**, Nr. 5, S. 391.

Henrich, F. und **Bugge, G.** Beiträge zur Kenntnis der Quellenabsätze (Sinter) der Wiesbadener Thermalquellen. Chemiker-Ztg. 1912, Jahrg. XXXVI, Nr. 51, S. 473.

Hesse, E. Weitere Studien über den Bakteriennachweis mit dem Berkefeldfilter. Zeitschr. f. Hyg. 1912, **70**, S. 311.

Heymans, J. F. Sur la perméabilité des filtres, des ultrafiltres et des membranes dialysantes aux microbes (ultra diapédèse microbienne). Bull. Acad. roy. d. médecine de Belgique 1912, Ser. IV, T. XXVI, Nr. 2. Ref. Bull. de l'Instit. Pasteur 1912, T. X, Nr. 12, S. 543.

Hoover, P. Ch. Testing the Bacterial Efficiency of Hypochlorite Treatment. Engineering Record 1912, **65**, Nr. 16, S. 439.

Hoskings, H. G. Exminster Sewage Works. The Surveyor and Municip. and County Engineer 1912, Vol. XLI, Nr. 1057, S. 592.

Houston. The Research Work of the Metropolitan Water Board. Seventh Report. The Surveyor and Municip. and County Engineer 1912, Vol. XLI, Nr. 1055, S. 528.

—, **A. C.** Water and disease. Journ. of State med. 1912, Vol. 20, Nr. 1 u. 2, S. 92.

Houstoun, R. A. The Mechanics of the Water Molecule. Proceed. of the Royal Society 1912, Ser. A, Vol. 86, Nr. 584, S. 102.

Huizinga, A. Die Bestimmung von Nitrat- und Nitritstickstoff in Drainage- und Regenwasser nach der Methode von Schlösing. Zeitschr. f. analyt. Chemie 1912, **51**, S. 273.

Irwin, R. Water Sterilization by Emergency Chlorinated Lime Treatment Plants. Meeting of the Soc. of Americ. Bacteriologists, Washington 27.—29. Dezember 1911. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 1912, **34**, Heft 1/3, S. 61.

Issatschenko, B. und **Rostowzew, S.** Denitrifizierende Bakterien aus dem Schwarzen Meere. Bull. du Jardin Imp. Botan. de St. Petersbourg, T. 11, S. 91. Ref. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 1912, **33**, S. 363.

Jackson, D. D. and **Muer, T. C.** Liver broth: a medium for the determination of gas-forming bacteria in water. Journ. of infect. Diseases, Vol. VIII, Nr. 3, S. 289. Ref. Centralbl. f. Bakt. 1912, I. Abt., Ref., **52**, S. 281.

Jacobsen, H. C. Die Kulturbedingungen von Haematococcus pluvialis. Folia microbiolog. 1912, Heft 1/2, S. 163.

Jansen, H. und **Strandberg, O.** Untersuchungen darüber, ob die Bakterizidität der Radiumemanation auf Ozonentwicklung zurückzuführen ist. Zeitschr, f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1912, **71**, Nr. 2, S. 223.

Karaffa-Korbutt, K. von. Zur Frage des Einflusses des Kochsalzes auf die Lebenstätigkeit der Mikroorganismen. Zeitschr. f. Hyg. 1912, **71**, S. 161.

Kaufmann, L. Das Kaysersche Verfahren zur Beseitigung von Kali-Endlaugen in Anwendung des Honigmannschen Prinzips. Kali 1912, **6**, S. 55.

Kausch, O. Die im Jahre 1911 in Deutschland patentierten Neuerungen auf dem Gebiete der Wasserreinigung. Das Wasser 1912, 8, Heft 3, S. 78, Heft 4, S. 108, Heft 5, S. 141, Heft 6, S. 170.

Kayser, H. Die Unterscheidung von lebenden und toten Bakterien durch die Färbung. Centralbl. f. Bakt. 1912, I. Abt., Orig., **62**, Heft 1/2, S. 174.

— Über das Kaysersche Verdampfverfahren. Chemiker-Ztg. 1912, Jahrg. XXXVI, Nr. 53, S. 493.

Kisskalt, K. Versache über Desodorierung. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1912, **71**, Nr. 2, S. 273.

Kofoid, Ch. A. A new horizontal selfclosing Plankton net. Intern. Revue d. ges. Hydrobiologie u. Hydrographie 1912, **5**, Nr. 1, S. 91.

Kolkwitz, A. Über den Reichtum der Gewässer an Kleinlebewesen. Medizinische Klinik 1912, Nr. 5.

—, **R.** Plankton und Seston. Mitteil. d. Deutschen Botan. Gesellsch. 1912, **30**, Nr. 6, S. 334.

— Das Plankton des Rheinstroms von seinen Quellen bis zur Mündung. Ber. d. Deutsch. Botan. Gesellsch. 1912, **30**, Heft 4, S. 205.

Kornstaedt, F. Typhus, Kanalisation und Trinkwasser in Stralsund. Centralbl. f. Bakt. 1912, I. Abt., Orig., **64**, Festschrift für F. Löffler, S. 100.

Kramer, G. Beiträge zum sofortigen Nachweis von Oxydations- und Reduktionswirkungen der Bakterien auf Grund der neuen Methode von W. H. Schultze. Centralbl. f. Bakt. 1912, I. Abt., Orig., **62**, Heft 5, S. 394.

Kühl, H. Über Methoden der Bakterienzählung. Zeitschr. f. öffentl. Chemie 1912, **18**, S. 183.

Labit, H. Le coli-bacille dans l'eau de boisson et la fievre typhoide. Rev. d'hyg. et de police sanit. 1912, T. 34, Nr. 5, S. 461.

Lauterborn, R. Die biologische Selbstreinigung unserer Gewässer. Verhandl. d. Naturhistorischen Vereins d. preuß. Rheinlande u. Westfalens, Jahrg. 68, S. 473.

Lehmann, M. Untersuchungen über den Chlorgehalt des Magdeburger Leitungswassers und des Elbwassers vom linken und rechten Ufer. Chemiker-Ztg. 1912, Jahrg. XXXVI, Nr. 27. S. 241.

Lehnkering, P. und **Diesfeld, L.** Fischvergiftungen durch Cyanverbindungen in den Abwässern von Eisenwerken. Wasser u. Abwasser 1912, **5**, Nr. 1, S. 1.

Lemberg, K. Das Missongfilter. Journ. f. Gasbeleuchtung u. Wasserversorgung 1912, **55**, Nr. 19, S. 446.

Lewis, Ph. D. W. Lee. Evanston's Experience with Hypochlorite of Lime and Typhoid Fever A Summary of the Results of Sterilizing Lake Michigan Water. Engineering Record 1912, **65**, Nr. 11, S. 300.

Loewenthal, S. Über die gebräuchlichsten Apparate zur Bestimmung der Radioaktivität von Quellen. Zeitschr. f. angew. Chemie 1912, **25**, S. 670.

Mains, Verunreinigung des. Allgem. Fischereiztg. 1912, Nr. 9, S. 242.

Massi, V. Di una analisi microscopica, batteriologica e chimica di un campione d'acqua di sorgente prelevato il 21 Juglio 1893. Riv. di Ig. e di San. pubbl. T. XXII, Nr. 21, S. 644. Ref. Bullet. de l'Inst. Pasteur 1912, T. X, Nr. 10, S. 450.

Mc Kenn, R. J. Heywood Sewage Purification and Refuse Destructor Works. The Surveyor and Municip. and County Engineer 1912, Vol. XLI, Nr. 1057, S. 589.

Mc Laughlin. Eradication of typhoid fever. Boston med. a. surg. Journ. 1912, Vol. 166, Nr. 21, S. 674. Ref. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref., 1912, **54**, Nr. 10, S. 305.

—, **A. J.** The necessity for safe water supplies in the control of typhoid fever. Publ. Health reports 1912, Vol. 27, Nr. 12, S. 421. Ref. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Ref., 1912, **54**, Nr. 10, S. 305.

Mechanical Filters, The Condition of Old. Engineering Record 1912, **65**, Nr. 13, S. 352.

Mehner, H. Die Entwässerung und Verfestigung der Kali-Endlauge. Kali 1912, **6**, S. 49.

Meyer, F. J. Notes on Water Softening. The Surveyor and Municip. and County Engineer 1912, Vol. XLI, Nr. 1063, S. 796.

Mineralwässer, Der Keimgehalt künstlicher. Internat. Mineralquellen-Ztg. 1912, Jahrg. 13, Nr. 284, S. 15—17.

Missong, J. Das Missongfilter. Journ. f. Gasbel. u. Wasservers. 1912, **55**, Nr. 11, S. 254.

Müller, Arno. Die Abhängigkeit des Verlaufes der Sauerstoffzehrung in natürlichen Wässern und künstlichen Nährlösungen vom Bakterienwachstum. Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundh.-Amte 1911, **38**, H. 3, S. 294.

—, **Paul Th.** Über die Rolle der Protozoen bei der Selbstreinigung stehenden Wassers. Arch. f. Hyg. 1912, **75**, Nr. 6/7, S. 321.

— Über eine neue, rasch arbeitende Methode der bakteriologischen Wasseruntersuchung und ihre Anwendung auf die Prüfung von Brunnen und Filterwerken. Arch. f. Hyg. 1912, **75**, Nr. 4/5, S. 199.

Murray. Lethbridge, Alberta, Sewage Disposal Works. The Surveyor and Municip. and County Engineer 1912, Vol. XLI, Nr. 1046, S. 211.

Nankivell, A. T. The sand filtration and purification of chalk waters. The Journ. of Hyg., Vol. 11, S. 235. Ref. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 1912, **33**, S. 361.

Noll, H. Beitrag zur Bestimmung der freien Kohlensäure im Wasser nach Trillich. Zeitschr. f. angew. Chemie 1912, Jahrg. 25, Heft 20, S. 998.

Oettinger, W. Die bakteriologische Kontrolle von Sandfilteranlagen. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1912, **71**, Heft 1, S. 1.

Parlandt, D. Über einige denitrifizierende Bakterien aus dem Baltischen Meere. Bull. du Jard. Imper. Botan. St. Petersbourg, T. 11, S. 97. Ref. Centralbl. f. Bakt., II. Abt., 1912, **33**, S. 376.

Pascher, A. Versuche zur Methode des Zentrifugierens bei der Gewinnung des Planktons. Intern. Revue d. ges. Hydrobiologie und Hydrographie 1912, **5**, Nr. 1, S. 93.

Percy, F. Der gegenwärtige Stand der Bakteriologie des Wassers. Journ. Soc. Chem. Ind. 1912, Nr. 30, S. 319. Ref. Zeitschr. d. Ver. d. Gas- u. Wasserfachm. in Österreich-Ungarn 1912, Nr. 3, S. 63.

Perkins, R. G. The desinfection of water. Monthly Bull. Ohio St. board of health 1912, Vol. 1, S. 72.

Peter, H. Neuere Sterilisierungsmethoden für größere Wassermengen, ihre technische und wirtschaftliche Anwendbarkeit. Journ. f. Gasbel. u. Wasservers. 1912, **55**, S. 645.

Piorkowski. Über den günstigen Einfluß des Chlormagnesiums auf die Selbstreinigung der Flüsse. Ref. Das Wasser 1912, Jahrg. 8, Nr. 13, S. 407.

Pollution, The — of Rivers in the United States. The Surveyor and Municip. and County Engineer 1912, Vol. XLI, Nr. 1053, S. 455.

Preschlin, E. P. Apparat zur Feststellung von Wasserverunreinigungen durch Säuren oder Alkalien mit Hilfe eines über Rollen laufenden Lackmuspapierstreifens, dem in regelmäßigen Zeitabschnitten eine Probe des zu untersuchenden Wassers zugeführt wird. Chemiker-Ztg. 1912, Jahrg. 36, Nr. 30, S. 155.

Prigge. Eine Paratyphusepidemie, veranlaßt durch Verseuchung einer Zentralwasserleitung. Klinische Jahrbücher 1912, Vol. 6, S. 469.

Projekt für eine eidgenössische Station für Fischerei und Gewässerkunde am Vierwaldstättersee. Allgem. Fischereiztg. 1912, Nr. 7, S. 180.

Pure Water, The Value of. Engineering Record 1912, **65**, Nr. 11, S. 286.

Purvis, T. E., MacHattie, A. C. N., Fisher, R. H. W. Non-Nitrification of Sewage in Sea-Water. The Contract Journal, **65**, Nr. 1679, S. 275.

Race, J. Die Behandlung von Wasser mit Chlor. Journ. Soc. Chem. Ind. **31**, S. 611. Ref. Chem. Zentralbl. 1912, **2**, Nr. 10, S. 876.

Rebière, G. Über die mikroskopische Flora und Fauna des destillierten Wassers. Journ. Pharm. et Chim. **5**, S. 490. Ref. Chem. Zentralbl. 1912, **2**, Nr. 7, S. 537.

Reukauf, E. Ein eigenartiger Schmarotzer an Canthocamptus staphylinus (Canthocamptus Ludwigii Reukauf). Centralbl. f. Bakt. 1912, I. Abt., Orig., **63**, Heft 2/3, S. 210.

Richter, R. Arbeiten über die organischen Kolloide im Abwasser. Pharmazeut. Zentralhalle 1912, **53**, S. 215, 247, 267 u. 331.

River Waters of the United States. The Surveyor and Municip. and County Engineer 1912, Vol. 41, Nr. 1042.

Rösler, K. Über den Nachweis der Typhusbazillen im Wasser mittels Komplementablenkung. Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Orig., **61**, Heft 1/2, S. 166.

Rouquette, M. E. Stérilisation des eaux d'alimentation par action de l'oxygène ozonisé et des composés chlorés, à l'état naissant. Compt. Rend. des Séances de l'Acad. des Sciences 1912, T. 154, Nr. 7, S. 447.

Rupp, G. Die Maxquelle in Bad Dürkheim a. H. Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußmittel 1912, **23**, S. 56.

Russel, E. J. und **Golding, J.** Die Erschöpfung der Rieselfelder und ihre Behebung durch teilweise Sterilisation. Journ. Soc. Chem. Ind., **30**, S. 471. Ref. Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußmittel 1912, **23**, S. 298.

Schall, M. Patentbericht aus dem Gebiete der Abwasserreinigung. Wasser u. Abwasser 1912, **5**, S. 3.

Scheidt, E. O. Über Trinkwasserbehandlung mit ultravioletten Strahlen. Chemiker-Ztg. 1912, Jahrg. 36, Nr. 4, S. 34.

Schepotieff, A. Untersuchungen über niedere Organismen. 4. Studien über Meeresbakterien. Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. d. Tiere 1912, **34**, Heft 1, S. 57.

Schneckenberg, E. Chemische Sterilisierungs-Schnellproben bei Ozon- und Ultraviolett-Wasserwerken. Journ. f. Gasbel. u. Wasserversorg. 1912, **55**, Nr. 18, S. 432.

Schroeter. Beiträge zur Frage der Sterilisation von Trinkwasser mittels ultravioletter Strahlen. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1912, **72**, S. 189.

Schulz, M. Anleitung zur chemischen Untersuchung und Beurteilung des Wassers. Das Wasser 1912, 8, Nr. 9 u. 10, S. 283 u. 311.

Schwarz, L. und **Nachtigall, G.** Über die Behandlung von Trinkwasser mit Chlorkalk. Gesundh.-Ing. 1912, **35**, Nr. 13, S. 256.

Schwarzer, Georg. Beiträge zur Frage der Wasserreinigung. Chemiker-Ztg. 1912, Jahrg. 36, Nr. 37, S. 333.

Selle. Die angebliche Flußverunreinigung durch die Endlaugen der Chlorkaliumfabriken. Zeitschr. f. angew. Chemie 1912, **25**, S. 1665.

Septic Tank Treatment, Results of — of Sewage at Plainfield, New Jersey. Engineering Record 1912, **65**, Nr. 2, S. 47.

Septic Tank, Utilizing Gas from — for Production of Power. Engineering Record 1912, **65**, Nr. 19, S. 523.

Sewage in Sea Water. Engineering Record 1912, Vol. 65, Nr. 1, S. 12.

Sewage, The — Disposal Works at Lebanon, a Plant Installed to Prevent Pollution of a Stream Used for Water Supply. Engineering Record 1912, **65**, Nr. 18, S. 501.

Sewage-Disposal, A — Plant for Attaining a High Degree of Purification. Engineering Record 1912, **65**, Nr. 14, S. 388.

Sewage Treatment at Worcester. Engineering Record 1912, **65**, Nr. 19, S. 513.

Shenton, H. C. H. The Softening, Purification and Sterilisation of Water Supplies. The Surveyor and Municip. and County Engineer 1912, Vol. 41, Nr. 1060, S. 694.

Silva, F. L. Le milieu de Mac Conkey et la recherche du Colibacille des eaux. Arch. do Inst. bact. Camara Pestana 1912, T. III, fasc. 3, S. 279. Ref. Bull. de l'Inst. Pasteur 1912, T. X, Nr. 13, S. 578.

Silvester, H. Die Phenolsulfosäuremethode zur Nitratbestimmung in Abwässern. Journ. Soc. Chem. Ind. 1912, **31**, S. 95. Ref. Chemiker-Ztg. 1912, Jahrg. 36, Nr. 75, Chem.-Techn. Repertorium, S. 357.

Sludge, Abstraction of Moisture from Sewage —. The Surveyor and Municip. and County Engineer 1912, Vol. 41, Nr. 1049, S. 330.

Sterilisation of Sewage Effluent at Pleasantville, New York. The Surveyor and Municip. and County Engineer 1912, Vol. 41, Nr. 1059, S. 647 u. 655.

Stokvis, G. G. and **Swellengrebel, N. H.** Purification of water by infusoria. Journ. of Hyg., Vol. 11, Nr. 4, S. 481. Ref. Centralbl. f. Bakt. 1912, I. Abt., Ref., **52**, S. 564.

Stooff. Fortschritte auf dem Gebiete der Beseitigung gewerblicher Abwässer. Journ. f. Gasbel. u. Wasservers. 1912, **55**, Nr. 19, S. 451.

Talsperren, Untersuchungen an. Journ. f. Gasbel. u. Wasservers. 1912, **55**, Nr. 4, S. 85.

Thiesing. Versuche über die Entmanganung von Trinkwasser. Mitt. a. d. Königl. Prüfungsanst. f. Wasservers. u. Abwässerbeseitigung zu Berlin 1912, Heft 16, S. 210.

Thimme, K. Über die Beeinflussung des biologischen Verfahrens durch industrielle Abwässer. Gesundh.-Ing. 1912, **35**, Nr. 26, S. 542.

Trax, E. C. Bacterial Variation due to Acidity and Flow in the Youghiogheny River at Mc Keesport, Pennsylvania. Meeting of the Soc. of Americ. Bacteriologists, Washington 27.—29. Dez. 1911. Centralbl. f. Bakt. 1912, II. Abt., **34**, Heft 1/3, S. 61.

Trillat et Fouassier. Influence de la nature des gaz dissous dans l'eau sur la vitalité des microbes. Compt. Rend. de l'Acad. des Sciences 1912, T. 154, Nr. 12, S. 786.

Trinkwasser-Reinigung, Elektrische. Electrical World. Ref. Zeitschr. f. Gerwerbe-Hygiene 1912, **19**, Nr. 3, S. 67.

Typhoid, The Chief Cause of. The Surveyor and Municip. and County Engineer 1912, Vol. 41, Nr. 1063, S. 788.

Ultra-violets, Controle du fonctionnement des appareils de sterilisation par les rayons. Eau et Hygiene 1911, **3**, Nr. 12, S. 81.

Volpino, G. und **Eler, E.** Über das Aufsuchen der Typhusbazillen im Wasser nach dem Komplementbindungsverfahren. Centralbl. f. Bakt. 1912, I. Abt., Orig., **62**, Heft 5, S. 422.

Walker, Leslie C. The effect of Chlorine upon the mircroorganisms of a river water. Journ. of the Roy. Inst. of Public Health, Vol. 19, S. 29. Ref. Centralbl. f. Bakt. 1912, II. Abt., **33**, S. 207.

Wasserversorgungstechnik, Die — auf der internationalen Hygieneausstellung in Dresden. Das Wasser 1912, Jahrg. 8, Nr. 16, S. 492.

Weidert, J. Über Trinkwasser und seine bakteriologische und chemische Begutachtung. Gesundheit 1912, Jahrg. 37, Nr. 4, S. 98.

Weldert, R. und **Reichle, C.** Untersuchungen über die Kohlebreikläranlage der Stadt Cöpenick. Mitt. a. d. Kgl. Prüfungsanst. f. Wasserversorgung u. Abwässerbeseitigung zu Berlin 1912, Heft 16, S. 1.

Wendel, O. Die anorganischen und organischen Bestandteile des Elbwassers. Zeitschr. f. angew. Chemie 1912, Jahrg. 25, Heft 6, S. 276.

— Untersuchungen des Magdeburger Elb- und Leitungswassers von 1904 bis 1911. Zeitschr. f. öffentl. Chemie 1912, Jahrg. 18, S. 2 u. 20.

Wendel, O. Untersuchungen des Elbwassers bei Magdeburg und Tochheim während der Eisstandsperiode Januar—Februar 1912. Zeitschr. f. öffentl. Chemie 1912, **18**, S. 122 u. 141.

Werra, Versalzung der. Allgem. Fischereiztg. 1912, Nr. 12, S. 323.

Wittmann, Joh. Gutachten über die vom Fischereiverein in Jaromeritz an der österreichischen Nordwestbahn in Mähren eingesandten Wasser-, Fisch- und Schlammproben. Arch. f. Chem. u. Mikroskop. 1912, **5**, Nr. 2, S. 77.

Young, George J. A Study of Slime Filtration. Experiments on the Filtration of Slime of Various Natures Employing Several of the Best Known Methods. The Engineering Magazine 1912, Vol. 42, Nr. 4, S. 636.

Referate.

Baker, Julian L., Day, F. E. and Hulton, H. F. E. A Study of the Organisms causing Ropiness in Beer and Wort. Journal of the Institute of Brewing, Vol. XVIII, 1912, S. 651—665.

Aus fadenziehenden Bieren und Würzen sowie aus Filtermasse von drei englischen Brauereien wurden 150 Organismen isoliert. Eine Anzahl von diesen rief Viskosität in Würze oder Bier hervor; 15 wurden eingehend untersucht und beschrieben. 4 von diesen machten nur die Würze, 11 dagegen das Bier schleimig. Diese letzteren waren einander so ähnlich, daß sie als eine Art aufzufassen sind. Sie wurden mit dem Namen Bacterium aceti viscosum bezeichnet. Mit den früher in englischen fadenziehenden Bieren gefundenen Arten (B. viscosus III van Dam und Pedioc. cerevisiae Brown und Morris) hat diese Bakterie keine Ähnlichkeit, ist aber nach den Verf. ein Mikroorganismus, welcher sehr häufig in englischen Bieren auftritt und Viskosität (Ropiness) hervorruft.

Bact. aceti viscosum gehört zu den Essigbakterien; eine größere Säuremenge wird gebildet, wenn Sauerstoffzufuhr stattfindet, gleichzeitig entsteht eine Haut. In Brauereien oder vielmehr in Abzapfungsanstalten muß deshalb Gewicht darauf gelegt werden, daß die Biere nicht der Luft ausgesetzt werden.

Bact. aceti viscosum ist dazu geneigter, Viskosität in Bier zu erzeugen, wenn die Infektion vor der Hauptgärung stattfindet. Eine größere Hopfengabe hat wenig, wenn überhaupt einen Einfluß auf das Schleimigwerden. Ein Zusatz von Stickstoff oder von Zucker nach der Gärung begünstigt weder, noch hemmt er die Viskosität. Eine größere Menge Asparagin begünstigt die Viskosität. Die für diese Krankheit günstigste Temperatur liegt bei 15 bis 24° C. Temperaturen von 13° C und 27° C sind nicht so günstig.

Eine genaue Beschreibung der obengenannten Bakterie wird in Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, Abt. II, gegeben.

Just. Chr. Holm.

Harden, A. and Young, W. J. The Preparation of Glycogen and Yeast-Gum from Yeast. Journal of the Chemical Society, 1912, S. 1928.

Die Verf. haben früher eine Methode zur Darstellung von Glykogen aus Hefe veröffentlicht. Diese Darstellung ist später bei Benutzung des Pflugerschen Verfahrens für die vorliegende Extraktion und Reinigung vereinfacht worden. Die Darstellung wird ausführlich beschrieben. Nachdem die Hefe mit Sand zerrieben und durch Kochen mit Wasser extrahiert worden ist, wird filtriert; das Filtrat wird dann abwechselnd mit Alkohol und Kalilauge (60%) mehrmals behandelt; nach Neutralisation mit Essigsäure wird das Glykogen mittels Alkohol ausgefällt.

Das so dargestellte Glykogen enthält aber immer Hefegummi. Salkowski fand, daß dasselbe ein Derivat von Mannose ist, und im Gegensatz zum Glykogen wird es nicht ausgefällt, wenn die Lösung mit Ammoniumsulfat gesättigt wird. Es läßt sich dadurch entfernen, daß das Glykogen in Wasser aufgelöst und die Lösung mit Ammoniumsulfat gesättigt wird. Das ausgefällte Glykogen wird, nachdem man es mit einer gesättigten Lösung von Ammoniumsulfat gewaschen hat, in Wasser gelöst, und die Lösung wieder mit Ammoniumsulfat behandelt; dieser Prozeß wird dreimal wiederholt. Der letzte Niederschlag wird wieder gelöst und die Lösung dialysiert, bis sie kein Ammoniumsulfat mehr enthält, worauf das Glykogen mittels Alkohol ausgefällt wird. Die letzten Spuren von mineralischen Bestandteilen werden durch wiederholte Auflösung in Wasser und darauffolgende Fällung durch Alkohol entfernt.

Wenn die Glykogenlösung rein ist, gibt ein Zusatz von Alkohol eine milchige Lösung statt eines Niederschlages; wenn man aber eine Spur von essigsaurem Kali in Alkohol zusetzt, wird das Glykogen ausgefällt. Mit absolutem Alkohol und Äther wird es entwässert und danach getrocknet. Das auf diese Weise dargestellte Glykogen enthält kein Hefegummi und ist praktisch genommen frei von mineralischen Bestandteilen (0,02%).

Das Hefegummi erhält man aus dem Filtrat der mit Ammoniumsulfat gesättigten Lösung mittels Dialysierung und Fällung mit Alkohol. Der Niederschlag wird in einer geringen Menge Wasser aufgelöst und jede Spur von Glykogen durch Saturation mit Ammoniumsulfat entfernt, danach Dialysierung, Fällung mit Alkohol und Dehydratation des Niederschlages mit Alkohol und Äther. Das Hefegummi ist ein weißes Pulver, welches in Wasser vollständig löslich ist, ohne dasselbe zu färben. Im Vakuum bei 100° C getrocknet enthält es 4,9% Asche; es ist rechtsdrehend $[(\alpha)_D + 66{,}76^0]$ und gibt nach Hydrolysierung einen reduzierenden Zucker.

Hefepreßsaft nach Buchner kann auch zur Darstellung von Glykogen verwendet werden. Der Saft muß dann gekocht, danach filtriert und mit Alkohol ausgefällt werden. Der Niederschlag wird dann, wie oben angeführt, mit Kalihydrat und Alkohol behandelt. Just. Chr. Holm.

Bainbridge, J. Scott and Davies, S. H. The essential oil of Cocoa. Transactions of the Chemical Society, Vol. 101, 1912, S. 2210—2221.

Es wurde früher angenommen, daß die im Kakao enthaltene aromatische Substanz mit dem Kakaorot identisch sei; dieser letztere Stoff ist aber im freien Zustande geruchlos. Es ist demnach vielmehr anzunehmen, daß das Aroma einem ätherischen Öl zu verdanken ist. Ein solches wurde auch schon früher dargestellt (Sack 1908), aber nur in sehr geringer Menge, und es wurde damals keiner näheren Untersuchung unterzogen. Eine solche haben dagegen die Verf. obiger Abhandlung vorgenommen. Das aus den Bohnen ausgepreßte Öl besitzt den eigentümlichen Geruch des Kakaos, während der Geschmack an Korianderöl erinnert. Vor der eingehenderen Beschreibung der chemischen Untersuchung geben Verf. eine Darstellung des Gärungsprozesses, welchen die Bohnen an Ort und Stelle (z. B. in Südamerika oder Westindien) durchmachen.

Die Kakaofrüchte werden mit einem Messer geöffnet, der Inhalt herausgeschabt und in große Behälter gebracht, in welchen das die Samen umschließende süße, schleimige Fleisch gärt und eine dünne, alkoholhaltige und saure Flüssigkeit bildet, welche nach und nach herausfließt. Der zuerst ausgetretene Saft enthält u. a. ca. 4,88 % Alkohol und zeigt einen Gesamtsäuregehalt — berechnet als Essigsäure — von 0,78 %. Während des Verlaufes der Gärung steigt die Temperatur in den ersten 24 Stunden von 26—28° auf 35—40°, beträgt dann während der nächsten 48 Stunden 40—45°, und kann, wenn die Gärung weiter fortgesetzt wird, auf 45—50° (selten 53°) steigen. Ausnahmsweise (auf der Insel Trinidad) wird die Gärung 10 bis 11 Tage weiter geführt; in diesem Falle sinkt die Temperatur langsam gegen Ende der Gärung herab. Alle zwei oder drei Tage wird der Inhalt aus einem Gärbottich in einen anderen übergeführt. Diese Bottiche sind mit Doppelböden und losliegenden Deckeln versehen, so daß während des Gärungsprozesses eine Lufterneuerung stattfindet. In jeden Bottich kommen 8000 bis 16000 Früchte. Das Äußere der Bohnen, welches ursprünglich weiß oder blaßrot ist, nimmt eine braune Farbe an, und es entwickelt sich ein charakteristischer Geruch.

Der Gärungsverlauf zerfällt in vier Perioden:

I. In den 12 ersten Stunden findet eine starke Entwicklung von Saccharomyces apiculatus statt; daneben Sacch. anomalus in geringer Menge.

II. Dann starke Entwicklung eines Saccharomyceten (oval und rund). Sacch. apiculatus und andere „wilde“ Hefearten werden unterdrückt; die Flüssigkeit enthält jetzt Alkohol.

III. Entwicklung von Essigbakterien, welche namentlich durch Essigfliegen (Drosophila) zugeführt werden. Die Flüssigkeit ist in einen dünnen Essig umgewandelt. Die Bakterien kommen während der fortgesetzten Gärung zur weiteren Entwicklung.

IV. Bei Verlängerung der Gärung über 8 Tage hinaus treten Bakterien auf, welche in die Gruppe des Bacillus subtilis gehören.

Wenn die Bohnen aus den Bottichen herausgenommen und an der Sonne langsam getrocknet werden, so kann in der Nacht eine Gärung eintreten, solange die Bohnen genügend feucht sind, und sind dann an deren Oberfläche große Kolonien von „wilder“ Hefe und Bakterien bemerkbar. Je nachdem die Gärung vorschreitet, verändert sich der in den früheren Stadien süße, fruchtartig-alkoholische Geruch und wird sehr ausgesprochen alkoholisch, dann ätherisch (Essigäther), später stark essigsauer. Wenn die Gärung verlängert wird und Fäulnisbakterien auftreten, macht sich ein „Wildgeruch“ bemerkbar. Es ist einleuchtend, daß die durch die Gärung gebildeten Produkte in die Bohnen hineindringen, wo die weniger flüchtigen sich dem Kern einverleiben. Infolgedessen ist zu erwarten, daß dem ätherischen Öl des Kakaos eine Anzahl verschiedener Ester und höherer Alkohole sich beigesellen werden, analog denjenigen, welche in anderen spontanen Fruchtgärungen bei Anwesenheit freien Sauerstoffs entstehen.

150 kg Bohnen gaben nur 4—5 ccm rohes Öl. Es wurden deshalb 2000 kg geröstete, abgeschälte Bohnen (Arriba Kakao aus Ecuador), zum Teil vom Kakaofett befreit, angewendet. Diese lieferten 24 ccm gereinigtes Öl, welches einer fraktionierten Destillation unterworfen wurde. Das Verfahren ist in der Abhandlung ausführlich beschrieben.

Mehr als 50 % des Kakaoöls besteht aus d-Linalool (einem tertiären Alkohol); es konnten daneben u. a. verschiedene Ester (Amylazetat, Amylpropionat, Amylbutyrat) der Kakaogärung entstammend, ferner auch einige Säuren, z. B. Valeriansäure, nachgewiesen werden. Just. Chr. Holm.

Takahashi, T. and Yukawa, M. On the Budding Fungi of „Shoju-Moromi“ (Soya-Maische). Original Communications. 8th international Congress of applied Chemistry. Washington and New York (Section VI B: Fermentation), Vol. XIV, 1912.

Unter Shoju-Moromi ist Soya-Maische zu verstehen. Dieselbe wird dadurch dargestellt, daß „Shoju-Koji“ mit gewöhnlichem Kochsalz und Wasser in einem gewissen Verhältnis vermischt werden. Die Zubereitung der Soya-Maische ist überhaupt der von Reis oder „Sake-Koji“ ähnlich; nur kommen im ersteren Falle Sojabohnen und gerösteter Weizen anstatt des Reises zur Verwendung.

Es wurden von früheren Forschern (K. Saito, T. Nishimura, T. Mitsuda und G. Kita) verschiedene Hefearten, namentlich Torulaformen und hautbildende Arten sowie einzelne Saccharomyceten, beschrieben; jedoch ist es nach den vorliegenden Beschreibungen nicht möglich zu entscheiden, ob mehrere von diesen identisch sind oder nicht, und ob sie Sporen zu bilden fähig sind. Es kommt dies daher, daß die untersuchten Proben verschiedenen Fabriken und in verschiedenen Stadien der Gärung entnommen wurden, wo bald die eine, bald die andere Form vorherrschte.

Takahashi und Yukawa haben 52 Proben untersucht, welche von 11 verschiedenen Fabriken herstammten und in verschiedenen Gärungsstadien entnommen waren. Es wurden fünf verschiedene Zygosaccharomyceten, eine Mycodermaart, eine Pichiaart, einige Torulaformen und eine Moniliaart isoliert. Um die Zellen der Zygosaccharomyceten zur Sporenbildung zu bringen, mußte ein besonderes Verfahren angewandt werden. Dieselben wurden in verdünnter Soja mit 5% NaCl drei Tage bei 28° dann 7—15 Tage bei 20—25° C gezüchtet, bis ein Hefenring sich gebildet hatte. Sobald die Zellen des letzteren eine angehende Promycelbildung zeigten, wurden sie in eine sterile Petrischale in steriles Wasser übertragen und darin verteilt. Ein Tropfen davon wurde dann in eine feuchte (Böttchers) Kammer eingeführt und diese mit Paraffin verschlossen, um die Verdunstung zu verhüten. Die Kammer wurde bei 20° C aufbewahrt, und konnte alsdann eine Sporenbildung (Fusion der Zellen usw.) beobachtet werden.

Zwei von diesen Zygosaccharomyceten (Z. major n. sp. und Z. Soja n. sp.) scheinen bei der Sojabereitung eine wichtige Rolle zu spielen, indem sie in den meisten Proben vorgefunden wurden, die erstere Art in den in den vorgeschrittenen, die zweite in den in den jungen Stadien entnommenen; von den anderen Arten sind einige (Z. japonicus Saito und Z. Salsus n. sp.) hautbildend und absolut schädlich. Just. Chr. Holm.

Söhngen, N. L. Über fettspaltende Mikroben und deren Einfluß auf Molkereiprodukte und Margarine. Folia Microbiologica **1**, 1912, Nr. 3, 44 S. mit 5 Tafeln.

Während tierische und pflanzliche Fette bei sorgfältiger Gewinnung und Aufbewahrung fast oder vollständig steril sind, enthält minderwertiges Material oft tausende von Keimen im Gramm, darunter hunderte von Fettzersetzern. In vier Milchproben konnten (durch Anlegung von Verdünnungen in mit Fett ausgekleideten Reagenzgläsern) direkt nach dem Melken 80 bis 15000 fettspaltende Bakterien, vorwiegend Fluorescens, Punctatum, Mikrokokken und Aromabildner, nachgewiesen werden. In vier Stunden alter Sommermilch wurden mehr als 50000 Fettzersetzer pro Kubikzentimeter gezählt; solche Milch gab nur nach längerer Pasteurisation (nach Zerstörung der Lipasen) eine haltbare Butter. Das Eindringen ist auf Kontaktinfektionen zurückzuführen. Die Vermehrung erfolgt am raschesten bei 10—15° C. Unter anaeroben Bedingungen überwuchern die Milchsäurebakterien; immerhin stieg auch die Zahl der Fettzersetzer gelegentlich bis auf 100 Millionen pro Kubikzentimeter an. Die nicht verflüssigenden Fettzersetzer (Bact. putidum, Stutzeri u. a.) machen die Milch nur seifig und käsig; die verflüssigenden Arten (Bact. fluorescens, punctatum usw.) sind viel schädlicher, die Milch wird faulig und bitter. Die letztgenannten Arten veranlassen auch das abnorm schnelle Aufrahmen der Milch; die Fettkügelchen ballen sich zusammen und der Käsestoff wird z. T. aufgelöst. In Butter, Margarine und Käse entwickeln sich diese Bakterien nur an der Oberfläche und nur die

Spaltungsprodukte, nicht die Lipasen dringen in das Innere vor. Enzymatische Fettspaltung findet allein in neutralen oder schwach alkalischen Medien statt, in sauren handelt es sich um Katabolismus. Namentlich fettspaltende Hefen kommen hier in Betracht, die in alter Butter und Margarine sehr überhandnehmen können. Gewinnung und Eigenschaften der verschiedenen Lipasen werden ausführlich besprochen. Besonders bemerkenswert ist die bei Gegenwart von wenig Wasser eintretende Umkehrung der Enzymtätigkeit; auch die Mikrobenlipase kann nach diesen Versuchen synthetisch wirken.

Löhnis.

Lieske, R. Untersuchungen über die Physiologie denitrifizierender Schwefelbakterien. Sitzgs.-Ber. Akad. Heidelberg, math.-naturw. Kl. [B] 1912, 6. Abhandlg.

Wurde eine Lösung folgender Zusammensetzung: 100 aq. dest., 0,5 $Na_2S_2O_3$, 0,5 KNO_3, 0,1 $NaHCO_3$, 0,02 K_2HPO_4, 0,01 $MgSO_4$, Spur $CaCl_2$, Spur Fe_2Cl_6 in hohen Zylindern mit etwas H_2S-haltigem Schlamm geimpft, so konnte ein dem Thiobac. denitrificans Beijck. nahestehendes kleines, sporenfreies anaerobes Bakterium angehäuft werden, zu dessen Isolierung ein entsprechendes, vorher gut gewässertes Agar diente. Der Organismus scheint nur zu autotropher Lebensweise befähigt zu sein. Auf Kosten des Nitrates werden H_2S, S, unterschwefligsaure sowie unterschwefelsaure Salze zu Sulfaten oxydiert, der Stickstoff wird in elementarer Form in Freiheit gesetzt und mit Hilfe der verfügbar werdenden Energie der Kohlenstoff aus Karbonaten oder Bikarbonaten assimiliert (pro Gramm $Na_2S_2O_3$ 10,9 mg C). Von den streng aeroben S-Bakterien bis zu den denitrifizierenden seien sicher allerhand Übergänge und speziell noch zahlreiche andere Arten vorhanden, die zur anaeroben Oxydation des Schwefelwasserstoffs befähigt sind.

Löhnis.

Trillat, A. Influence favorable exercée sur le développement de certaines cultures par l'association avec le Proteus vulgaris. Compt. rend. de l'Acad. Paris, **154**, 1912, S. 1116—1118.

Milchsäurebakterien wurden bedeutend gefördert, die mit Mischkulturen geimpfte Milch säuerte weit intensiver. Z. B. enthielten je 1000 ccm Milch nach 24 Stunden Milligramm Milchsäure:

Milchsäurebakterien	Proteus	beide zusammen
410	190	750

Die Einwirkung auf Prodigiosus war analog. Löhnis.

Trillat, A. et Fouassier. Etude des propriétés du destillat d'une culture de B. Proteus sur la vitalité des microbes. Compt. rend. de l'Acad. Paris, **154**, 1912, S. 1443—1445.

Das aus einer Proteus-Bouillonkultur durch Vakuumdestillation (bei 45° C) gewonnene Produkt übte wie auf Prodigiosus, Coli und Pneumococcus

so auch auf die Tätigkeit der Milchsäurebakterien einen entschieden fördernden Einfluß aus. Die wirksamen Substanzen sind noch näher zu untersuchen; Ammoniak fand sich nur in sehr geringer Menge. Nach relativ kurzer Zeit verliert das Destillat seine spezifischen Eigenschaften. Löhnis.

Pringsheim, H. Über den fermentativen Abbau der Zellulose. Zeitschr. f. physiol. Chemie, **78**, 1912, S. 266—291.

Für mehrere Gruppen von Zellulosezersetzern (Methan-, Wasserstoff-, denitrifizierende und thermophile Bazillen) wurde die Bildung einer Zellulase und einer Zellobiase durch Zusatz von Antisepticis (am besten Jodoform in Azeton) zu den kräftig gärenden Kulturen erwiesen. Die Zellulase der Thermophilen wirkte zwischen 20 und 70°; für die Zellobiase sind die Temperaturgrenzen enger (Optimum bei 46°, Maximum bei 67° C). Durch entsprechende Wahl der Temperatur ist somit Fraktionierung der Enzyme möglich und es kann gezeigt werden, daß als erstes Hydrolysierungsprodukt lediglich Zellobiose entsteht. Die Zellulose ist demnach vielleicht als Zellobiosekomplex aufzufassen. Der Versuch, die Zellulase zu filtrieren, gelang nicht; wahrscheinlich handelt es sich um ein Endoenzym, das nur infolge eines von der vorhandenen Zellulose ausgeübten Reizes ausgeschieden wird.

Löhnis.

Michalowsky, N. P. Über den neuen Apparat zur Unschädlichmachung der Milch nach Dr. F. Hering. Ber. d. bakt.-agron. Stat. Moskau, **19**, 1912, S. 51—66 [russ. m. deutsch. Zusammenfassung].

Der von der Firma Hugershoff nach den Angaben Heryngs[1]) konstruierte Apparat, in dem die Milch in zerstäubtem Zustande der Erhitzung ausgesetzt wird, gab keine befriedigenden Resultate, 0,1—13,8 % der in der Milch vorhandenen Bakterien blieben am Leben; gesetzmäßige Beziehungen zum ursprünglichen Keimgehalt waren nicht erkennbar. Verf. läßt es dahingestellt, ob nur Konstruktionsfehler oder Fehler des Grundprinzips für den Mißerfolg verantwortlich zu machen sind. Löhnis.

[1]) Es handelt sich offenbar um den von T. Heryng (nicht F. Hering) in den Compt. rend. de la Soc. de Biologie, Bd. 68, 1910, S. 668 f. beschriebenen Apparat. Über eine andere, ebenfalls auf dem Zerstäubungsverfahren beruhende Vorrichtung berichteten Meurer und Lobeck auf der deutschen Naturforscher-Versammlung, September 1912.

Register der Personennamen.

(Die beiden Literaturlisten auf Seite 159 und 338 wurden nicht miteinbezogen).

Alphabetisches Sachregister.

(Die beiden Literaturlisten auf Seite 159 und 338 wurden nicht miteinbezogen).

Buchdruckerei E. Buchbinder (H. Duske) Neuruppin.